

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA  
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad fotoprotectora de crema elaborada a  
base de extracto hidroalcohólico de propóleo de  
*Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman.  
Ayacucho – 2010.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. NAVARRO CAMASI, ADRIÁN**

**AYACUCHO – 2011**

*A MI MADRE:*

*Roberta Camasi Pariona, por su inmenso amor y ejemplo, fortificando día a día mi formación personal y profesional. A mis hermanos: Alejandro, Luis y Pamela.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por mi formación profesional.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Biológicas, especialmente a los de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Al Q.F Edgar Cárdenas Landeo, por el asesoramiento en la ejecución y desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Q.F Milagro del Rosario Huayta Baldeón, por todo su apoyo incondicional, por demostrarme siempre su disposición.

A la Bfga. Edna León Palomino, por las facilidades brindadas en la ejecución de este trabajo de tesis.

## ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. El propóleo	4
2.2. Flavonoides	7
2.3. La piel	8
2.4. Radiación solar	12
2.5. Índice ultravioleta	15
2.6. Fotoprotección	16
2.8. Factor de protección solar	20
2.9. Efectos del sol en la piel	21
2.10. Formas farmacéuticas semisólidas	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Ubicación	25
3.2. Materiales	25
3.3. Métodos	25
3.4. Diseño experimental	31
3.5. Análisis de datos	31
IV. RESULTADOS	32
V. DISCUSIÓN	41
VI. CONCLUSIONES	48
VII. RECOMENDACIONES	49
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
IX. ANEXOS	53

**Actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* “abeja” en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.**

**AUTOR : Bach. Adrián Navarro Camasi.**

**ASESOR : Mg. Q.F Edgar Cárdenas Landeo.**

### **RESUMEN**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Bromatología, Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, con el objetivo de determinar la actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja” en ratas albinas Holtzman.

La muestra de propóleo fue obtenido de las colmenas procedentes de la localidad de Luricocha, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, al cual previamente se determinó sus características organolépticas, la presencia de taninos y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* se realizó mediante los procedimientos de Miranda y Cuellar (1996). Las cremas se elaboraron a las concentraciones de 10%, 15%, 20% y 25% en base Lanett utilizándose como patrón la crema fotoprotectora ISDIN® FPS 90. La actividad fotoprotectora se determinó utilizando el método COLIPA *in vivo* basado en el método de Shulze (Coba, 2007). Para lo cual se emplearon 7 tratamientos cada uno con 3 animales de experimentación, cada grupo fue sometido a una fuente de luz UV producido por el Foco UV (A- B) Philips HB – 12301 hasta el tiempo que apareció un ligero eritema y posteriormente observados inmediatamente después de la exposición a la lámpara durante 7 días (Hollands y Gomez, 2003). La crema elaborada con el 25% del extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* presentó un tiempo de 25,6 minutos en la aparición de la DEM (Dosis Erimatosa Mínima) y además que la misma crema con la misma concentración presentó un FPS (Factor de Protección Solar) de 3,01. Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) mostrando diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ensayados. Se concluye que a mayor concentración mejor efecto fotoprotector de crema elaborada de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja”.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*, actividad fotoprotectora, propóleo.

## I. INTRODUCCIÓN

La radiación UV es conocida como uno de los principales agentes ambientales que puede repercutir seriamente en la salud humana. A nivel molecular, algunos de los múltiples efectos dañinos de la radiación UV incluyen la alteración de moléculas de ADN y proteínas, inactivación de enzimas y formación de radicales libres, los cuales atacan a membranas celulares y otras moléculas diana alterando su funcionalidad (Trullas, 2004).

La exposición cutánea a dosis elevadas de radiación UV es responsable del desarrollo de quemaduras solares a corto plazo, mientras que las exposiciones reiteradas, dan lugar a inmunosupresión, fotocarcinogénesis y fotoenvejecimiento. Desde los años 70 se observó un incremento importante de casos de cáncer de la piel. La Organización Mundial de la Salud (OMS), utiliza el término "Epidemia" para calificar el significativo incremento en número de nuevos casos de cáncer cutáneo. En los últimos diez años el cáncer de piel creció 8.3%, principalmente por la sobre exposición al sol (Duro y col., 2003).

Esta situación se debe en gran parte, a un cambio en los hábitos relacionados con la exposición al sol, y en concreto a la radiación ultravioleta. Por otro lado, el lento pero continuo deterioro de la capa de ozono registrado en latitudes medias y altas viene a agravar la situación, dado que es ampliamente conocido, que el ozono estratosférico es un filtro natural de la radiación UV.

El empleo de los productos de la colmena por parte del hombre data de miles de años, desde que este comenzó a desarrollarse. En el mundo actual se emplean productos naturales pues hay conciencia de las bondades que nos ofrece la naturaleza, por tal motivo la aplicación de los productos apícolas en el campo de la nutrición, la medicina y la farmacología ocupan un lugar especial (Bracho, 1999).

El propóleo es una sustancia compleja, producto de la mezcla de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, estas son recolectadas por las abejas de distintas fuentes botánicas (cortezas, yemas, ramas, etc.); las que son transportadas a la colmena, donde son modificadas física y químicamente, para cumplir con la función de proteger la misma de distintos patógenos (Cuellar, 1998).

El propóleo es un producto muy apreciado por sus propiedades bacteriostáticos, bactericidas, antiinflamatorias, cicatrizante, analgésicas, antifúngicas, antitóxicas, estimulantes, antioxidantes, antisépticas, entre otros. La composición química del propóleo es muy amplia, en la misma que se destacan el contenido de flavonoides, terpenoides, aldehídos, entre otros; estas sustancias determinan que este producto natural cumpla con roles de tipo terapéutico. Los flavonoides son considerados los principales compuestos biológicos activos del propóleo y son polifenoles de origen botánico que han sido usados como los marcadores de la calidad del propóleo. La actividad fotoprotectora del propóleo se debe a los flavonoides debido a la concentración de los electrones deslocalizados en los anillos bencénicos de las estructuras químicas de esas sustancias, lo que facilita el traslado de energía (Martine, 2005).

La idea de producir una crema de protección solar a base de propóleo acompaña la necesidad de nuevos productos para la protección contra la radiación UV y sigue la tendencia mundial de producir cosméticos a partir de

componentes naturales, razón por el cual se propone como trabajo de investigación determinar dicha propiedad aplicando el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja".

Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

#### **OBJETIVOS GENERALES:**

1. Determinar la actividad fotoprotectora de crema elaborada a partir de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar los principales metabolitos que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja".

2. Formular y elaborar una crema fotoprotectora a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" al 10%, 15% y 20% y 25%.

3. Determinar el FPS (Factor de Protección Solar) óptimo *in vivo* de la crema elaborada a partir de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" mediante el método COLIPA (THE EUROPEAN COSMETICS ASSOCIATION).



## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. EL PROPÓLEO**

#### **2.1.1. HISTORIA Y ANTECEDENTES**

El uso del propóleo por el hombre data desde tiempos muy remotos, los sacerdotes del antiguo Egipto la utilizaban muy frecuentemente como sustancia medicinal y como parte integrante de ungüentos y cremas de embalsamar. El sabio Aristóteles confeccionó una colmena transparente para estudiar la vida de las abejas y éstas se lo impidieron cubriendo las paredes con una sustancia oscura. En sus escritos él cita al propóleo como el “remedio ideal para golpes y magulladuras”. Y fueron precisamente los griegos quienes lo dieron el nombre de “propóleo”: pro que significa “defensa o delante” y polis que quiere decir ciudad, “defensa de la ciudad de abejas” (Asis, 1996).

A partir de entonces el propóleo se usó por casi toda las civilizaciones, China, India, Roma, Persia, Inca lo utilizaban cuando se presentaba un cuadro de infecciones febriles y en el continente europeo lo usaron los franceses en los siglos XVIII y XIV para el tratamiento de llaga. Su máximo empleo se dió durante la guerra de los Boers, en África del Sur, alrededor de 1900, en el tratamiento de heridas infectadas y como sustancia cicatrizante (Salamanca, 2002).

En 1909, Aleksandrov publicó un pequeño artículo titulado “El própolis como medicamento” que incitaba al lector a curar sus callos con propóleos, que

consistía en fundir sobre fuego trozo del mismo, que se aplicara sobre el callo y recubriera con una venda. Al cabo de pocos días, la corteza y la raíz del callo caerían solas. Cuando se descubre la penicilina y demás antibióticos se olvidan del propóleo, pero los efectos adversos que estos causan a la salud se redescubre el propóleo, con múltiples aplicaciones. El científico francés Rémy Chauvin emprendió, durante los años 1965 – 1966, una serie de investigaciones sobre las bacterias que infectan a los insectos y constató que las abejas, a diferencia de otros insectos, están libres de ciertas bacterias (Asis, 1996).

Su utilización se ha mantenido durante siglos hasta nuestros días, en que se están realizando investigaciones científicas sobre el empleo de preparados a base de propóleo en los campos de la biología, medicina humana y cosmetología (Almira y Ubillús, 2004).

### **2.1.2. DEFINICIÓN**

El propóleo es una sustancia resinosa, balsámico de color verde pardo, castaño o incluso casi negro (dependiendo de su origen botánico) de sabor astringente.

El propóleo presenta una consistencia variable. Dependiendo de su origen y de la temperatura. Hasta los 15 °C es duro y se torna más maleable a medida que aumenta la temperatura. Su punto de fusión varía entre 60 °C a 70 °C llegando en algunos casos hasta 100 °C (Almira y Ubillús, 2004).

### **2.1.3 ORIGEN Y COMPOSICIÓN**

El propóleo es recolectado por las abejas de más de 15 días que, con sus mandíbulas, toman las partículas resinosas que hay sobre las yemas de diferentes fuentes botánicas. Después de sujetar la partícula resinosa, la abeja mueve hacia atrás la cabeza hasta que logra desprenderla, almacenándola con sus patas en los cestitos del polen. Las enzimas de su boca participan también en la operación para evitar su adherencia. Cuando llega a la colmena con la carga, otras obreras le ayudan a descargar el propóleo, misión que llega a durar

varias horas. Si el material no es bastante maleable, la abeja recolectora se instala en la piquera, donde espera a que el calor del sol ablande la carga y pueda desprenderse mejor de ella (Salamanca, 2002).

La composición química del propóleo es sumamente compleja, cada región presenta condiciones de flora diversa, dependiente de fenómenos locales, influenciados por la temperatura, las precipitaciones, el tipo de suelo, la humedad relativa y el brillo solar.

La abeja elabora el propóleo de acuerdo a sus necesidades y probabilidades de fuentes de materia prima, por lo que está demostrado internacionalmente que será difícil encontrar dos colmenas que produzcan propóleos idénticos, aun cuando estén ubicados en la misma zona geográfica. Es más, aun los propóleos de las distintas partes de la colmena no tendrán exactamente la misma composición. Pero estas variaciones no están dadas por la diversidad de los elementos que están presentes en su composición que básicamente se mantendrán estables, sino en las cantidades de cada uno de ellos que estarán presentes en cada muestra (Salamanca, 2002). En líneas generales en todos los propóleos encontraremos:

Resinas y bálsamos aromáticos	50-55%
Cera	7,5-35%
Aceite volátiles	10%
Polen	4-5%
Sustancias orgánicas y minerales	5%

Entre 1975 y 1991, se aislaron compuestos, entre ellos:

Ácido benzoico, ácido gálico, ácido caféico, ácido cinámico, ácido fenílico, ácido isofenílico, vainillina, isovainillina, flavonoides, flavonas, Aluminio, Plata, Bario, Boro, Cromo, Cobalto, Cobre, Estaño, Hierro, Magnesio, Manganeso, Molibdeno,

Níquel, Selenio, Silicio, Titanio, Vanadio y Zinc; Vitaminas: Pro- vitamina A, vitamina B1 (Tiamina), B2 (Riboflavina) y B3 (Niacina) (Almira y Ubillús, 2004).

## **2.2. FLAVONOIDES**

En términos de acción farmacológica, los principales constituyentes del propóleo son compuestos fenólicos (flavonoides). Estos se caracterizan por la presencia al menos un grupo oxidrilo unido directamente a un anillo aromático. Los flavonoides del propóleo se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en las plantas superiores y, especialmente en aquellas con sistema vascular (Bruneton, 1991).

Se encuentran en las partes aéreas de las plantas, en los capullos y hojas jóvenes. Son compuestos fenólicos, responsables de la coloración de numerosas flores y ciertas frutas. Los flavonoides presentan no menos de 41 acciones farmacológicas, entre las que se destaca por su proyección terapéutica la acción que ejerce sobre la red capilar, disminuyendo su fragilidad y su permeabilidad. Algunos flavonoides presentes en los propóleos poseen una acción similar a la del ácido nicotínico, funcionando como sistema oxidorreductor reversible, en sinergia con el ácido ascórbico. Los flavonoides fueron descubiertos por Szent György en 1930 cuando aisló de la cáscara del limón, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C<sub>2</sub> (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950 (Evans, 1991).

Desde el punto de vista químico, los flavonoides son compuestos orgánicos de bajo peso molecular, con un esqueleto básico de 15 carbonos, difenilpiranos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), compuesto por dos anillos de fenilo (A y B) ligados a través de un

anillo C de pirano (heterocíclico). En las plantas se encuentran tanto en estado libre como glicósidos (Evans, 1991).

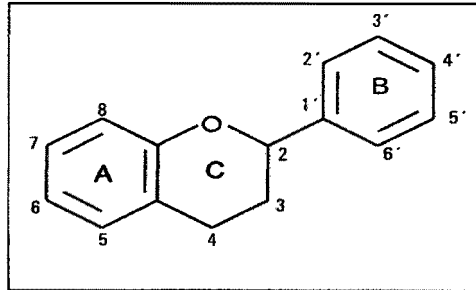


Figura N° 1: Estructura química general del flavonoide (Evans, 1991).

El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima en 23 mg/día, siendo la Quercetina el predominante con un valor medio de 16 mg/día. Los flavonoides tienen acción benéfica sobre numerosos procesos fisiológicos del cuerpo humano, otorgan beneficios sobre el corazón, vasos sanguíneos, hígado, sistema inmune, tejido conectivo, glándulas adrenales, riñones, musculatura y sistema nervioso. Pueden actuar como antioxidantes, antialérgicos y antiinflamatorios, inmunoestimulantes, antihepatotóxico, antineoplásico e hipoglucemiante, además de otras numerosas acciones incluyendo estabilización de la permeabilidad capilar (Evans, 1991).

### 2.3. LA PIEL

La piel es el órgano más extenso de nuestro cuerpo. En el adulto cubre una superficie de aproximadamente dos metros cuadrados. El espesor de la piel varía en las distintas partes del cuerpo, así como la presencia de vello y glándulas. Máxima delgadez la podemos apreciar en los párpados mientras que el mayor grosor se encuentra en la planta del pie y en las palmas de las manos.

Recubre por completo el cuerpo y continua, a la altura de los orificios naturales (nariz, boca, ano) con las mucosas (Martine, 2005).

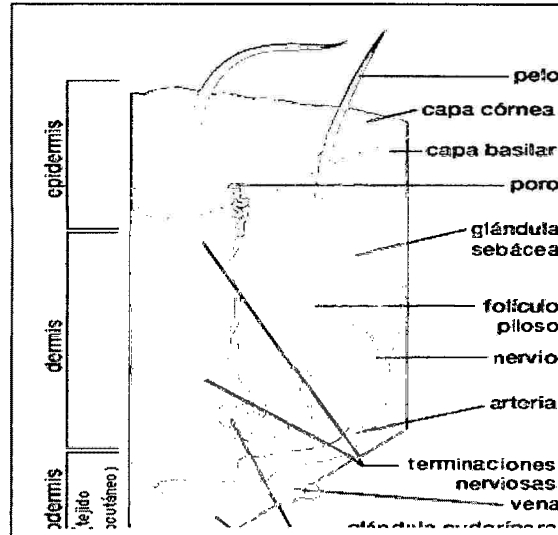


Figura Nº 2: Estructura de la piel (Fernández, 2005).

### 2.3.1 ESTRUCTURA DE LA PIEL

La piel esta constituida por tres capas: la epidermis, que es la más superficial, la dermis y la hipodermis, que es la más profunda. Ésta presenta una película, que se denomina hidrolipídica, que es una mezcla de sebo y sudor, que confiere a la piel la primera barrera defensora contra agresiones externas, ya que limita el desarrollo de bacterias debido a su carácter ácido. Además esta fina emulsión mantiene el grado de hidratación cutánea y le proporciona un aspecto aterciopelado (Fernández, 2005).

#### A. Epidermis

Es la capa más superficial de la piel presenta un grosor de 0,04 a 0,4 mm y esta formado por diferentes capas de células estratificadas. La epidermis presenta invaginaciones que dan lugar a los anexos de la piel, como los folículos pilosos y las glándulas sebáceas. En la epidermis, la capa superficial se denomina capa córnea. Está formada por células que contienen queratina, y que son eliminados continuamente por exfoliación. Este tipo de células han perdido

el núcleo y se han vuelto planas, formando finas capas que no contienen vasos sanguíneos. La capa cornea presenta diferente espesor según sea la parte del cuerpo. En las palmas de las manos y en la planta de los pies aparece más gruesa, porque son zonas sometidas a fricción. Sin embargo, la piel que cubre mucosas contiene queratina, por tanto, no posee capa cornea. Dentro de la capa basal de la epidermis se produce la pigmentación de la piel gracias a las melaninas sintetizadas por los melanocitos que son gruesas células dendríticas (Fernández, 2005).

Las melaninas son polímeros que pigmentan la piel, el vello y los cabellos, el iris del ojo. Desde el punto de vista químico, todas ellas derivan de la tirosina, que bajo la acción de una enzima, tirosinasa asociada a su coenzima, el Cobre, forma la DOPA, y posteriormente la Dopaquinona. La síntesis es específica a partir de la dopaquinona, de la que parten dos vías de síntesis diferentes: la de la eumelanina y de la feomelanina. La eumelanina es un polímero de indol-5,6-quinona y de Dopaquinona. Este polímero absorbe las radiaciones UV-B, y protege así la piel en parte de los perjuicios del sol. La feomelanina debe su coloración roja a la presencia de aminoácidos azufrados en su molécula (Martine, 2005).

La melanina que se forma como melanosomas en los melanocitos de la capa básica de la epidermis es secretada por los queratinocitos, luego es recibida y transportada hacia el estrato córneo a la vez que absorbe la radiación ultravioleta para brindar protección. A medida que estos gránulos de pigmentación se desplazan hacia la superficie para finalmente perderse con el cambio normal de la piel, el pigmento necesita subir a la superficie mediante una exposición continua a rayos (Martine, 2005).







La melanina no es una entidad química definida sino un grupo de diferentes polímeros en varias etapas de oxidación. El sistema de glutatión (GSH) es un

factor importante para controlar la pigmentación de la piel; los niveles del GSH están controlados por el ambiente y no por herencia, y en la población blanca, los niveles de GSH son bajos (Fernández, 2005).

Los célticos (rubios o pelirrojos de piel blanca) sintetizan principalmente feomelanina, pigmento no protector y potencialmente cancerígeno, por lo que tienen dificultades para broncearse. Los caucásicos (blancos de piel clara o mate) poseen los dos tipos de pigmentos, cuyas proporciones relativas influirán en la totalidad de la piel. Los negroides sólo sintetizan eumelanina.

Según la intensidad de la pigmentación, la población mundial se distribuye en 6 fototipos (Fernández, 2005).

**CUADRO Nº 01:** Fototipos cutáneos según la clasificación de Fitzpatrick (Duro y col., 2003).

Fototipo	Tipo de piel	Reacción solar	Índice de FPS aconsejado	Tendencia a quemarse
 I	Piel muy clara, ojos azules. Pecas casi albinos	Eritema intenso. Gran descamación. No se pigmentan.	40	12 minutos
 II	Piel clara. Ojos azules o claros. Pelo rubio o pelirrojo	Reacción eritematosa. Descamación. Ligera pigmentación	30	15 minutos
 III	Piel blanca (caucasiana). Ojos y pelo castaño	Eritema moderado. Pigmentación suave.	20	18 minutos
 IV	Piel mediterránea. Pelo y ojos oscuros	Ligero eritema. Pigmentación fácil.	15	21 minutos
 V	Morena. Tipo India, Sudamérica, indostánicos, gitanos.	Eritema imperceptible. Pigmentación fácil e intensa	10	30 minutos
 VI	Piel morena	No hay eritema pero si bronceado	8	45 minutos



Las pieles asiáticas, llamadas “amarillas”, pueden estar incluidas en el grupo de los caucásicos. Sus melanosomas tienen, sin embargo, una forma y una maduración particular. La eumelanina llega a la superficie cutánea permanentemente, pero en pequeña cantidad. Su producción aumenta con la exposición solar (Duro y col., 2003).

## **B. Dermis**

Es una capa que tiene un grosor de 0,5 a 2,5 mm, esta formada por fibras que le dan elasticidad. Sus células especializadas, los fibroblastos, sintetizan fibras de colágeno y de elastina. Las fibras de colágeno dan firmeza y resistencia a los tejidos. Constituyen el 75% del total de fibras presentes en la dermis. El colágeno se divide en dos fracciones la soluble y la insoluble. En el envejecimiento, el colágeno se vuelve más insoluble, de modo que la piel pierde flexibilidad (Martine, 2005).

La elastina presenta fibras más finas, que dan elasticidad a la piel, progresivamente se vuelven más rígidas y aproximadamente, pasados los 45 años desaparece. Estas fibras se encuentran en un gel rico en ácido hialurónico, el cual es capaz de fijar moléculas de agua, contribuyendo así la hidratación de la piel. Aparte de las fibras, también se hayan mucopolisacáridos y glucosaminoglicanos, estos últimos son hidrofílicos, capaces de retener grandes cantidades de agua (Fernández, 2005).

## **C. Hipodermis**

La hipodermis es la capa más profunda de la piel. Esta formada por adipositos, tractos fibrosos y vasos. Los adipositos son células que se disponen en lóbulos bien separados, por ellas discurren los vasos y los nervios. Su principal función es proteger frente a golpes, aislar térmicamente y formar una reserva energética (Fernández, 2005).

## 2.4. RADIACIÓN SOLAR

La luz solar es necesaria para la vida, pero la exposición a las radiaciones solares es conveniente únicamente durante 15 minutos, ya que los efectos del sol pueden ser muy dañinos para nuestro organismo (Sánchez y Lanchita, 2002).

El sol es, con diferencia, la mayor fuente de energía con interés biológico y emite un espectro continuo de energía radiante. Esta radiación, antes de llegar a la superficie de la tierra, pasa a través de la atmósfera donde una parte es dispersada y otra absorbida por diferentes moléculas de modo que tan solo dos tercios de esta energía llega hasta el nivel de la superficie terrestre. El vapor de agua y el dióxido de carbono atmosférico atenúan severamente la radiación de onda larga, mientras que la absorción en longitudes de onda más corta la realiza el ozono. La radiación solar que finalmente llega a la tierra abarca una amplia franja de este espectro, la cual comprende longitudes de onda desde aproximadamente 290 nm hasta cerca de 2400 nm (ultravioleta, radiación visible e infrarroja) (Duro y col., 2003).

La radiación ultravioleta (UV) es la banda espectral de mayor energía que alcanza la biosfera, que comprende las longitudes de onda entre 100 a 400 nm. La radiación solar UV que llega a la superficie de la tierra consta aproximadamente entre un 95% y un 98% de UV-A y un 2 a 5% de UV-B y toda la radiación UV-C es absorbida por el ozono y moléculas de oxígeno, que impiden que el 99% de las radiaciones con longitud de onda inferior a 290 nm (UV-C) alcancen la superficie terrestre. A la absorción por ozono se añade la dispersión por las moléculas del aire y aerosoles y la reflexión, dispersión y atenuación por las nubes. Así mismo, la cantidad de radiación UV que se recibe en un momento dado también esta en función del espesor de la capa atmosférica que tenga que atravesar, que depende de la hora del día, época del

año, latitud sobre el nivel del mar, presencia de nubes o aerosoles contaminantes, etc.

Son muchas las investigaciones que se han sucedido a lo largo de las últimas décadas advirtiendo de la disminución de los niveles de ozono estratosférico a nivel global como consecuencia de la emisión de clorofluorocarbonos (CFCs) a la atmósfera. Datos recientes revelan que, pese a los acuerdos internacionales firmados que restringen la emisión de este tipo de compuestos a la atmósfera, tan solo puede hablarse a día de hoy de una cierta sensibilización en el tamaño del agujero de ozono, en donde los niveles antárticos de ozono están lejos de recuperar los registrados en los años 80 (Mulero, 2004).

Una consecuencia inmediata de la reducción de los niveles de ozono es el aumento del flujo de radiación UV-B que alcanza la superficie terrestre y a los sistemas acuáticos (Mulero, 2004).

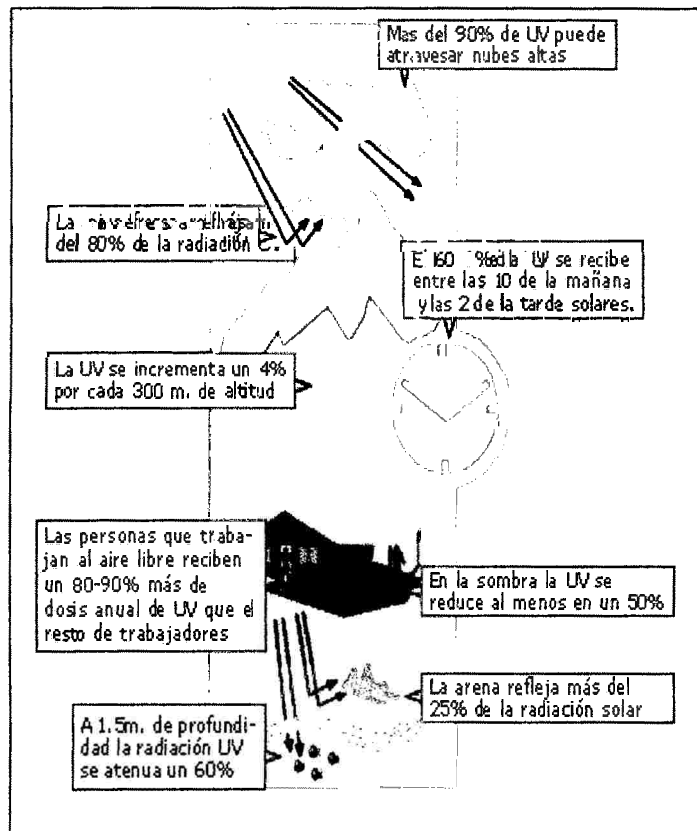


Figura Nº 3: Factores que afectan la intensidad de la radiación solar (Duro y col., 2003).

## **2.4.1. TIPOS DE RADIACIÓN SOLAR**

### **A. Rayos UV – C: (200– 290 nm)**

Este tipo de radiación ultravioleta es la de menor longitud de onda, cubre toda la parte ultravioleta menor de 290 nm, es letal para todas las formas de vida de nuestro planeta y en presencia de la cual no sería posible la vida en la tierra tal y como la conocemos actualmente, es totalmente absorbida por el ozono, de modo que en ningún caso alcanza la superficie terrestre (Apaza, 2003).

### **B. Rayos UV – B: (280 – 315 nm)**

Gran parte de esta radiación es absorbida por el ozono, pero una porción considerable alcanza la tierra en su superficie afectando a los seres vivos produciendo además del bronceado, quemaduras, envejecimiento de piel, conjuntivitis. Cualquier daño a la capa de ozono aumentará la radiación UV-B. Sin embargo, esta radiación está también limitada por el ozono troposférico, los aerosoles y las nubes (Apaza, 2003).

### **C. Rayos UV – A: (315–400 nm).**

Es relativamente inofensiva y pasa casi en su totalidad a través de la capa de ozono. Este tipo de radiación alcanza los efectos de la radiación UV-B pero mediante dosis unas 1000 veces superiores, característica que la convierte en la menos perjudicial. Hay que realizar la aclaración de que la radiación UV-A alcanza la tierra con una intensidad muy superior a la UV-B por lo tanto es recomendable protegerse (Gómez y col., 2007).

### **D. Luz visible: (400 – 700 nm).**

Se ha demostrado que presentan efectos de fotoenvejecimiento de poca importancia (Lecha, 2000).

### **E. Infrarrojo: (700 – 3000 nm).**

El calor prolongado por estos rayos, ocasiona efectos adversos serios para la

piel humana (Lecha, 2000).

## 2.5. ÍNDICE ULTRAVIOLETA

Las organizaciones internacionales especializadas de las Naciones Unidas como la OMM (Organización Meteorológica Mundial), la OMS (Organización Mundial de la Salud), el PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente) y otras organizaciones no gubernamentales han propuesto la creación de un índice simple que informa a la población del riesgo, este es el Índice Ultravioleta y varía de 0 y 16 y tiene 5 rangos:

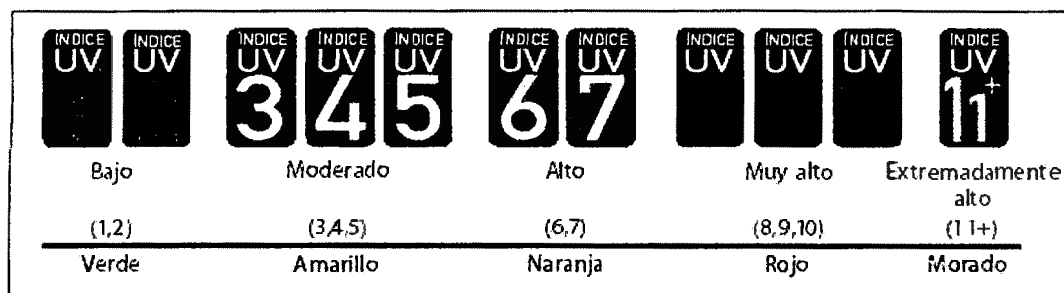


Figura Nº 4 Código internacional de colores (Programa INTERSUN) (Cañarte y Saluns, 2005).

El índice UV es una medida de la intensidad de la radiación UV del sol incidente sobre la superficie de la tierra y es un indicador del efecto de la radiación sobre la piel humana.

Este número surgió al constatarse que la dosis efectiva al acumularse durante una hora en un metro cuadrado de piel humana, varía entre 0 y 1500 Joules.

De este resultado experimental, se acordó internacionalmente asignarle el número 1 a 100 Joule/m<sup>2</sup> hora, 2 a 200 Joule/m<sup>2</sup> hora; y así sucesivamente hasta llegar al índice 16 que usualmente corresponde al tope de la escala. (Apaza, 2003).

## 2.6. FOTOPROTECCIÓN

### 2.6.1 FOTOPROTECCIÓN NATURAL

Actúan de dos formas: absorbiendo la radiación o desviándola. Entre los primeros destacan a nivel epidérmico el ácido urocánico, la melanina, el ADN, el

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
ESTOBAL DE HUAMANGA  
BIBLIOTECA

ARN y el triptófano; y a nivel de dermis, la hemoglobina sanguínea, la bilirrubina tisular y el betacaroteno de la grasa. Los pelos, el manto graso de la piel y los queratinocitos de la capa córnea (Harry, 1990).

## **A. Pigmentación**

En los caucásicos existen dos tipos de pigmentación:

### **A.1. La pigmentación directa**

Esta provocada por la radiación UV-A: es el fenómeno de Meyrowski. Aparece en 6 horas, y es muy fugaz. Se debe a un aumento de la oxidación de la DOPA. No se presenta en todos los individuos. Es la pigmentación que aparece después de la exposición durante un tiempo suficiente detrás de un vidrio (luna del coche, por ejemplo) (Harry, 1990).

### **A.2. La pigmentación indirecta o retardada**

Se debe a los UV-B. Aparece en 48 horas y sigue al eritema. Se debe a la excitación del melanocito que provoca un aumento de la síntesis de melanina y la proliferación de los melanosomas (Harry, 1990).

## **B. Engrosamiento de la capa córnea**

La irradiación UV-B induce un aumento del número y del espesor de las diferentes capas de queratinocitos en la epidermis viva, una queratinización aumentada y un engrosamiento de la capa córnea. También se observa la aparición de "*sunburn cells*" en las capas profundas de la epidermis irradiada. Son queratinocitos en apoptosis, de forma redonda y que no tiene conexión con los queratinocitos vecinos. Todos estos fenómenos se deben a una alteración del programa de diferenciación de los queratinocitos que se encuentra retrasado y a un aumento de la proliferación asociada a un proceso de apoptosis.

Durante los tres primeros días después de la irradiación, la epidermis se vuelve queratósica, caracterizada por una capa córnea que vuelve a la normalidad en 10 a 14 días (Martine, 2005).

### **C. Producción de ácido urocánico**

Aparece en el sudor, en que se produce en su forma *trans* a partir de la histidina por acción de una histidinasa. Absorbe las radiaciones UV a 285 nm y constituye así un filtro. Se consideró que participaba en la fotoprotección natural. Actualmente, al contrario, se sabe que interviene en el fenómeno de inmunosupresión inducida por los UV-B, después de su transformación en el isómero *cis* (Martine, 2005).

### **2.6.2. FOTOPROTECCIÓN ARTIFICIAL**

Existen tres grandes grupos de sustancias.

#### **A. Pantallas**

Son sustancias que reflejan la totalidad de las radiaciones. Son generalmente de origen mineral. Se utilizan dos tipos de pigmentos.

✧ Polvos pigmentarios de granulometría de 200 a 300  $\mu\text{m}$ , entre ellos.

- Óxido de titanio.

- Óxido de zinc.

- Óxidos de hierro (forman parte de la composición de tintes)

✧ Mica-titanio. Refleja todas las radiaciones y en particular las IR. Esta formado por partículas de mica recubiertas de óxido de titanio.

✧ Polvos "ultrafinos" de óxido de zinc o de óxido de titanio, de granulometría de 20-80  $\mu\text{m}$ , capaces de dejar pasar las radiaciones de longitud de onda mayor de 400 nm y de absorber y reflejar las demás. Así permite preparar productos transparentes protectores frente a los UV-B y UV-A (Fernández, 2005).

#### **B. Filtros**

Son moléculas aromáticas que poseen un grupo carbonilo que se isomeriza bajo el efecto de la energía de las radiaciones absorbidas. Estos filtros absorben una parte de las radiaciones cortas, y refleja la otra parte con una longitud de onda superior a 380 nm, visible o IR, y por tanto, inofensiva (Fernández, 2005).

## **1. Filtros de origen sintético**

Son con diferencia lo más activos. Absorben la radiación solar ultravioleta. Actúan captando la energía incidente y transformándola en otro tipo de energía con una longitud de onda diferente, que resulta inocua para la piel. Son moléculas de estructura electrónica resonante. (Fernández, 2005).

### **1.1. Filtros de espectro estrecho (fotoprotección UV-B)**

- Derivados del ácido para-aminobenzoico (PABA)
- Derivados del ácido salicílico
- Derivados del ácido parametoxicinámico
- Derivados del alcanfor bencilidénico
- Ácido fenilbencimidazol sulfónico

### **1.2 Filtros de amplio espectro (fotoprotección UV-B + UV-A)**

- Benzofenonas
- Fenilbenzotriazoles
- Triazina

### **1.3. Filtros de espectro moderado – amplio (fotoprotección UV-A)**

- Derivados de dibenzoilmetano
- Derivados del bencilidén alcanfor
- Fenilbencimidazol

## **2.- Filtros de origen natural**

Actúan absorbiendo o neutralizando los efectos negativos de las radiaciones solares en especial presentan efectos antioxidantes y secuestradores de radicales libres (Martine, 2005).

### **● Flavonoides**

Extracto de camomila

Extracto de hipérico

### **● Derivados antracénicos**



Extracto de aloe (al 10 % en la preparaciones)

● **Naftoquinonas**

Nogal

● **Aceites**

Aceite de oliva

Aceite de coco

Aceite de sésamo

**C. Capturadores de radicales libres**

Aparecen en las formulaciones acompañadas de un filtro. Tienen por finalidad proteger la piel del efecto de las radiaciones que no se han absorbido y que pueden generar radicales libres (Martine, 2005).

Son:

- La vitamina E
- La vitamina A
- La quercetina
- La superóxido dismutasa (SOD)
- La N-acetilcisteína
- La ubiquinona o Q10

**2.7. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR**

El Factor de Protección Solar (FPS) es la relación entre el tiempo de exposición necesario para producir eritema con protección y sin protección. Este factor adimensional representa la cantidad de veces que se extiende el tiempo de exposición solar al usar protección.

Matemáticamente,

$$FPS = \frac{DEM \text{ con protección solar}}{DEM \text{ sin protección solar}}$$

Variando entre un número mayor que 1 y 100 o más. Así, si una persona sin protección que posea un tipo de piel para el cual en 15 minutos puede comenzar

a iniciar un eritema, con FPS de 10 (que puede lograrse con productos químicos aplicados sobre la piel o protecciones externas como ropa adecuada, sombras artificiales o naturales, etc.) estará protegido por 10 veces más, es decir unos 150 minutos (dos horas y media) (González, 2006).

## 2.8. EFECTOS DEL SOL EN LA PIEL

Entre los efectos positivos de la radiación solar, se encuentran la sensación de bienestar y el aumento de vitalidad. La luz solar. Además de intervenir en la síntesis de la vitamina D, es capaz de estimular procesos circulatorios y metabólicos.

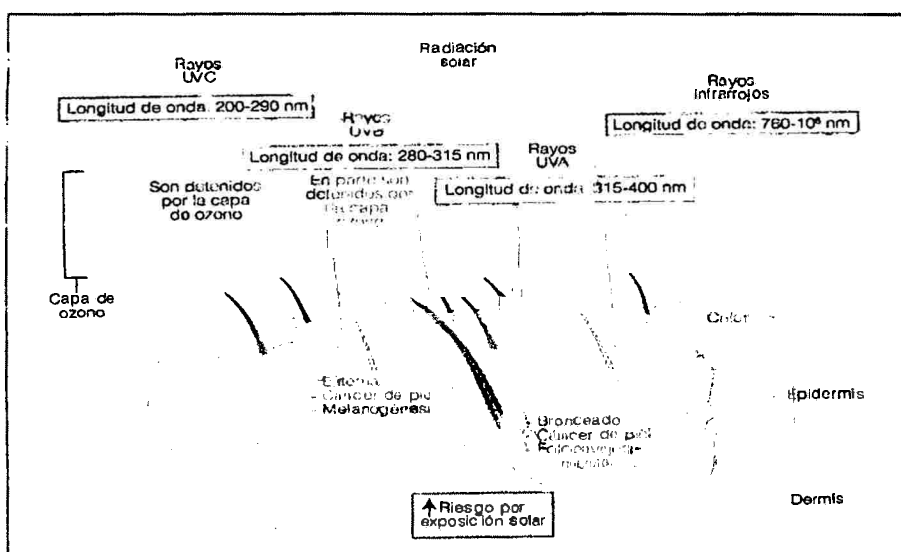


Figura N° 5: Efectos del sol en la piel (Trullas, 2004).

### A. Urticaria solar

Son urticarias (protuberancias grandes, rojas y con picor) que aparecen sólo algunos minutos después de estar la persona expuesta al sol. La urticaria aparece a los diez minutos de la exposición solar y desaparece a las dos horas de apartarse de la luz. Las personas con grandes áreas afectadas suelen tener cefaleas y sentirse débiles y con náuseas (Duro y col., 2003).

### B. Fotosensibilidad

Es una enfermedad en la que a las personas afectas se les presenta

enrojecimiento, inflamación y, algunas veces, anomalía de coloración parduzca o azul en las áreas de la piel que han estado expuestas a la luz solar por un tiempo breve. Esta reacción difiere de las quemaduras solares en que solo aparece después de que la persona ha ingerido unos fármacos determinados o que se ha aplicado ciertas sustancias químicas sobre la piel. Estas sustancias hacen que la piel de algunas personas sea más sensible a los efectos de la luz ultravioleta. Algunas personas sufren de urticaria con picor, lo que indica la existencia de un tipo de alergia a un fármaco que se desencadena por los efectos de la luz solar. Entre los fármacos más tóxicos a este nivel se encuentran amiodarona, tetraciclinas, sulfonamidas, tiacidas, clorpromacina, furosemida, fluoroquinolonas, griseofulvina, retinoides, peróxido de benzoilo, antihistamínicos, piroxicam, antimaláricos (Trullas, 2004).

Hay dos categorías de reacciones de fotosensibilidad: las fototóxicas y las fotoalérgicas.

En el caso de las fototóxicas, las lesiones tienen apariencia de quemadura solar exagerada, con sensación de ardor y formación de pequeñas vesículas, o bien con urticaria. Las reacciones de este tipo varían de un individuo a otro.

En el caso de las fotoalérgicas, es una respuesta inmunológica a un antígeno que se produce en la piel al exponer una sustancia fotosensibilizante al sol. Aparece una erupción eczematosa, edema y prurito intenso, aproximadamente entre las 12 y 24 horas después de la exposición solar (Trullas, 2004).

### **C. Fotoenvejecimiento o envejecimiento cutáneo extrínseco**

Los rayos UV, sobre todo la A, así como otros factores ambientales (frío, contaminación, tabaco) provocan la formación de radicales libres con gran capacidad oxidante, que lesionan las células y provocan un envejecimiento de la piel. Desde el punto de vista clínico, el fotoenvejecimiento e indudablemente es responsable de la mayor parte de los cambios no deseados del aspecto de la

piel. Se manifiesta particularmente en las zonas del cuerpo que se hallan más expuestas (cara, cuello y manos). En estas zonas la piel pierde elasticidad, se hace áspera, se arruga, toma un color amarillo y se manifiesta una pigmentación irregular con diversas pequeñas manchas oscuras (manchas de envejecimiento), salpicada de telangiectasias y arañas vasculares. La característica histológica del fotoenvejecimiento es la *elastosis dérmica*, consecuencia de la degradación progresiva de las células, matriz extracelular y vasos sanguíneos (Vitale, 2002).

#### **D. Fotocarcinogénesis**

El espectro UV-B de la radiación solar posee la mayor potencia de inducción de cáncer de piel ya que induce lesión estructural en el ADN celular.

Los tres tipos de cáncer cutáneo asociados a una exposición excesiva de radiación UV son el carcinoma de células escamosas (SCC), el carcinoma de células basales (BCC), y el melanoma. Los cánceres SCC y BCC, también llamados cánceres no-melanoma, surgen de los queratinocitos, la principal población celular de la epidermis, mientras que los melanomas se originan en las células productoras de pigmento de la epidermis, los melanocitos.

Los SCC y BCC ocurren en mayor medida en cabeza, nuca y manos, todas áreas del cuerpo que son propensas a una exposición excesiva. En general, la incidencia de los SCC es considerablemente menor que los BCC.

El riesgo a SCC está directamente relacionado a las dosis acumuladas de la radiación UV, pero el riesgo a BCC y a melanomas está relacionado con exposiciones intensas e intermitentes, como las que ocurren en actividades recreacionales en el aire libre y baños de Sol. El melanoma es una forma relativamente rara de cáncer de piel pero es responsable del 80% de las muertes asociadas a cánceres de piel (Cañarte y Saluns, 2005).

### **2.9. FORMAS FARMACEÚTICAS SEMISÓLIDAS**

Son preparaciones destinadas a ser aplicadas sobre la piel o ciertas mucosas con

el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración percutánea de principios activos; o por su propia acción emoliente o protectora (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 1998).

### **2.9.1 CREMAS**

Las cremas cosméticas son preparados emulsionados de constitución pastosa destinada al cuidado y embellecimiento de la piel. Químicamente están constituidas por una base que contiene cuerpos grasos, agua, agentes emulsificantes, humectantes y aditivos de diferente naturaleza.

Las cremas cosméticas de manera general están destinadas a ser aplicadas, ya sea directamente al organismo cutáneo o a servir de vehículo a diferentes principios activos que van a producir efectos especiales. El método seguro para preparar las cremas, consiste en producir emulsiones, añadiendo la fase interna a la fase externa (Helman, 1981).

**A. Cremas A/O.-** Se obtienen por adición de agua o soluciones acuosas a las bases de absorción: en ellas, la fase acuosa queda emulsionada como fase interna. Su consistencia es variable y depende de los componentes de ambas fases. Frecuentemente se las denomina cremas grasas, debido a la sensación untuosa que, clásicamente, estos preparados producen al ser aplicados, dejando la piel grasa y brillante (Trillo, 1993).

**B. Cremas O/A.-** Son bases emulgentes O/A adicionados o no de componentes auxiliares (humectantes, estabilizantes, conservantes, etc.) en las que se emulsionan diversas cantidades de agua o soluciones como la fase externa. Son preparados lavables, adherentes a la piel y tienden a desvanecerse una vez aplicados debido a la evaporación de su contenido acuoso, que puede ser muy elevado. La piel queda con su aspecto mate habitual tras la aplicación de estas cremas evanescentes (Trillo, 1993).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- UBICACIÓN**

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Bromatología, Farmacología y Toxicología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de Setiembre, Octubre y Noviembre del 2010.

#### **3.2 MATERIALES**

##### **3.2.1 POBLACIÓN**

Propóleo de *Apis mellifera* "abeja" recolectadas en la localidad de Luricocha, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho a 2380 m.s.n.m.

##### **3.2.2 MUESTRA**

100g de la crema del extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja".

##### **3.2.3. MATERIAL BIOLÓGICO**

21 ratas albinas Holtzman de 200 a 250 g de peso mantenido en un ambiente libre de disturbios, a temperatura ambiente con una alimentación balanceada y agua. Obtenido en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud.

#### **3.3. MÉTODOS**

##### **3.3.1. RECOLECCIÓN DEL PROPÓLEO**

El propóleo se obtuvo mediante la utilización de un propolizador que consta de

un material atóxico introducido dentro de la colmena que rápidamente fue propolizada por las abejas, el propóleo fue obtenido fácilmente mediante el raspado. La técnica permitió a que el propóleo obtenido esté libre de trozos de madera, polvo, astillas de la colmena, abejas muertas. La muestra recolectada se depositó en una bolsa plástica oscura (Ramírez, 2003).

### **3.3.2. PREPARACIÓN DEL PROPÓLEO**

El propóleo fue sometida a una etapa de pre-acondicionamiento colocándose en congelación durante 3 horas a una temperatura de -10 a -20 °C, para su conservación adecuada, y facilitar su molienda para la preparación de la tintura madre (Ramírez, 2003).

### **3.3.3. PREPARACIÓN DE LA TINTURA MADRE DE PROPÓLEO**

Para la preparación de la tintura madre se procedió a macerar el propóleo pulverizado, en alcohol etílico al 96° en un frasco ámbar agitando por 30 minutos durante 5 días, pasado el tiempo necesario para la extracción de sus componentes, se filtró en frío obteniéndose la tintura madre (Ramírez, 2003).

### **3.3.4. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO BLANDO DEL PROPÓLEO**

Para obtener el extracto blando, se concentró la tintura madre de propóleo en baño maría a 37 °C (Ramírez, 2003).

### **3.3.5. DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE FLAVONOIDES Y TANINOS**

La determinación cualitativa de flavonoides y taninos en la tintura madre del propóleo de *Apis mellifera* "abeja" se realizó mediante la reacción de identificación de Shinoda y Cloruro Férrico respectivamente (Miranda y Cuellar, 1996).

### **3.3.6. FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA CREMA**

La elaboración de la crema se siguió de la siguiente manera:

#### **A.- Formación de la fase acuosa:**

Se colocó en un vaso de precipitado 10 g de propilenglicol y 3 mL de parabenos,

se llevó a baño maría a 70 – 75 °C, una vez que todos están disueltos y manteniendo agitación constante se agregó agua y se agitó hasta lograr una perfecta incorporación y homogenización manteniendo la temperatura antes mencionada

#### **B.- Formación de la fase oleosa:**

En otro vaso de precipitado se colocó 15 g de cera Lanett y 5 mL vaselina líquida, luego se agregó el extracto blando del propóleo de *Apis mellifera* “abeja”, se fundieron ambas a una temperatura de 70 °C en baño maría con agitación moderada y constante.

#### **C.- Formación de la emulsión final:**

Una vez que todos los componentes estén totalmente disueltos en sus respectivas fases y manteniendo las temperaturas adecuadas, se incorporó lentamente y con agitación la fase acuosa sobre la fase oleosa; se retiró el recipiente y se siguió agitando hasta que se enfrió. Luego se colocó las cremas en sus respectivos envases asépticos y rotulados (Cabrera, 2005).

### **3.3.7. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE LAS CREMAS.**

#### **A.- Determinación de las características organolépticas.**

##### **Color:**

Se tomó 1 g de la muestra y se colocó en una luna de reloj, luego se colocó en un fondo blanco, y se determinó el tipo de color.

##### **Olor:**

Se tomó 0,5 g de la muestra con el dedo índice de la mano derecha y se extendió en el dorso de la mano izquierda con ligera presión, determinándose el tipo de olor.

##### **Consistencia aparente:**

Se tomó 4 g de la muestra en un pequeño vaso de precipitado y con una varilla



de vidrio se agitó, para ser si la emulsión sufre alta, moderada o ninguna resistencia, y esto se realizó para determinar si es una emulsión líquida, semilíquida, cremosa o altamente cremosa.

**Evanescencia, poder refrescante:**

Se colocó 1 g de muestra en el dorso de la mano, se observó si la crema se evapora rápidamente o se mantiene en la piel.

**Homogeneidad:**

Se realizó una extensión de la muestra sobre un portaobjeto se situó esta encima de una superficie negra y se procedió a visualizar con una lupa.

**Determinación de pH:**

Se colocó una cantidad de 2 g de muestra en un vaso de precipitado y se agregó 30 mL agua destilada, se agitó y se procedió a medir el pH. Con la finalidad de determinar si las cremas presentan un pH alcalino o básico.

**B.- Determinación del tipo de emulsión o signo de emulsión:**

Se realizó mediante la prueba de solubilidad donde se colocó 3 g de muestra en un vaso de precipitado y se agregó agua destilada, al agitar se formó un precipitado homogéneo la cual indica que se trata de una emulsión de tipo O/W.

**C.- Determinación del índice de extensibilidad:**

Para realizar este ensayo se utilizaron dos portaobjetos, entre las cuales se colocó 1 g de la crema. Se colocó el portaobjeto y se trazaron las diagonales, luego se colocó la muestra de la crema en la intersección. Se pesó el portaobjeto superior y se situó sobre el inferior, pasado un determinado tiempo (1 minuto), y por efecto de la presión, la crema se extendió de forma aproximada circular. Se anotaron los valores de los diámetros y se calculó el radio y con estos datos se determinó la superficie del círculo formado. La extensibilidad se representará en  $\text{mm}^2$  (Área= $\pi (d/2)^2$ ).

#### **D.- Determinación de la irritabilidad dérmica primaria:**

La irritación producida por una sustancia se mide por la técnica de prueba de parche sobre la piel escoriada e intacta del conejo albino. El dorso del conejo se rasuró aproximadamente 2,0 x 2,0 cm. Bajo un parche cuadrado de gasa quirúrgica que mide 2,5 x 2,5 cm. y con un grosor de dos capas, se introdujo 0,5 g de la crema a ensayar. Se inmovilizó al animal con los parches asegurados con tela adhesiva por 24 horas.

A las 24 horas de exposición se quitaron los parches y se evaluó las reacciones resultantes mediante la escala de valores descrita por Draize para la evaluación de las lesiones de la piel (Anexo Nº 03). Se hizo lecturas nuevamente, 48 horas después de la primera lectura. Se evaluó las reacciones de la piel escoriada a las 24 y 72 horas, del mismo modo anterior. Se sumaron los valores del eritema y la formación de escaras, de la piel intacta a la piel escoriada a las 24 y 72 horas cada uno (cinco valores). De manera semejante se sumaron los valores para la formación de edema de la piel intacta a la piel escoriada a las 24 y 72 horas cada uno (cinco valores). El total de los diez valores se dividirá entre cinco para dar el valor de irritación primaria. Se aplicó la escala de valores de Draize para dar el resultado final.

0	: No irritante
1 - 2	: Levemente irritante
3 - 6	: Moderadamente irritante
7 - 8	: Severamente irritante; (Mendoza, 2008).

### 3.3.8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA

La metodología empleada para la determinación de la actividad fotoprotectora se basa en el método COLIPA *in vivo* basado en el método de Shulze (Coba, 2007).

$$FPS = \frac{DEM \text{ con protección solar}}{DEM \text{ sin protección solar}}$$

O bien

$$FPS = \frac{\text{Tiempo con protección}}{\text{Tiempo sin protección}}$$

La Dosis Eritematosa Mínima (DEM), es la energía medida del sol, dentro del UV, que empieza a producir enrojecimiento de la piel. La DEM se expresa en julios/cm<sup>2</sup>, pero corresponde en la práctica, al tiempo necesario para obtener eritema y edema (Martine, 2005). Para la cual se diseñó una forma farmacéutica (Anexo N° 3). Se utilizaron 21 animales de experimentación de 200 – 250 g de peso los cuales fueron distribuidos en 7 grupos experimentales. Los animales se mantuvieron a condiciones estables de humedad, temperatura e iluminación. Setenta y dos horas antes de iniciar cada ensayo, se les depiló el lomo con una crema depiladora. Como fuente lumínica se utilizó el Foco UV (A- B) Philips HB – 12301, para lo experimentos se utilizaron un numero de 3 animales por grupo, los que se dispusieron en cámaras de tratamiento ultravioleta (UV). Para la exposición de la fuente lumínica se utilizó una cámara como se muestra en el anexo N° 2, la distancia entre la fuente lumínica y los animales fue de 20 cm. Una vez aplicada la crema en el lomo del animal de experimentación se esperó 15 minutos para luego someterles a la radiación ultravioleta. Los animales fueron observados minuciosamente en 7 momentos. Inmediatamente después de transcurrir el tiempo de exposición a la lámpara UV 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días después de la exposición (Hollands y Gomez, 2003).

### 3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

CUADRO N° 02: Distribución de los diferentes tratamientos para cada grupo experimental.

N° De lote	Control, Animales Depilados	Animales depilados más radiación ultravioleta	Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema fotoprotectora del extracto hidroalcohólico de propóleo al:				Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema patrón ISDIN® FPS 90
			10%	15%	20%	25%	
1	X						
2		X					
3			X				
4				X			
5					X		
6						X	
7							X

### 3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados se expresan como promedio la aparición en minutos de la DEM (Dosis Eritematosa Mínima) y el FPS (Factor de Protección Solar). La diferencia significativa existente entre los tratamientos fue evaluada a través del Análisis de Varianza (ANOVA), con un nivel de significación estadística de 0,05.

#### **IV. RESULTADOS**

**CUADRO N° 03:** Metabolitos secundarios según ensayos presentes en el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja". Ayacucho – 2010.

Metabolitos secundarios	Ensayos con reactivos	Resultados	
		Extracto hidroalcohólico	Observaciones
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	++	Coloración azul negruzca
Flavonoides	Shinoda	++++	Naranja en la fase amilica

**LEYENDA:**

REGULAR: (++)

ABUNDANTE: (+++)

**CUADRO N° 04:** Parámetros organolépticos y pH según ensayo de las cremas elaboradas a base de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* "abeja". Ayacucho – 2010.

PARÁMETROS	ENSAYOS	FÓRMULAS	RESULTADOS
Características organolépticas	Color	Crema Base	Blanco
		Crema E.H.P AL 10%	Verde amarillento
		Crema E.H.P AL 15%	Verde amarillento oscuro
		Crema E.H.P AL 20%	Verde amarillento oscuro
		Crema E.H.P AL 25%	Verde amarillento oscuro
	Olor	Crema	Suigeneris
	Consistencia aparente	Crema	Cremosa
	Evanescencia poder refrescante	Crema	Alta evanescencia, bajo poder refrescante
Aspecto	Crema	Homogéneo	
pH	Cremas	Crema Base	6,32
		Crema E.H.P AL 10%	5,92
		Crema E.H.P AL 15%	5,71
		Crema E.H.P AL 20%	5,69
		Crema E.H.P AL 25%	5,63

**LEYENDA:**

E.H.P: Extracto hidroalcohólico de propóleo

**CUADRO N° 05:** Tipo de emulsión de las cremas elaboradas a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja". Ayacucho –2010.

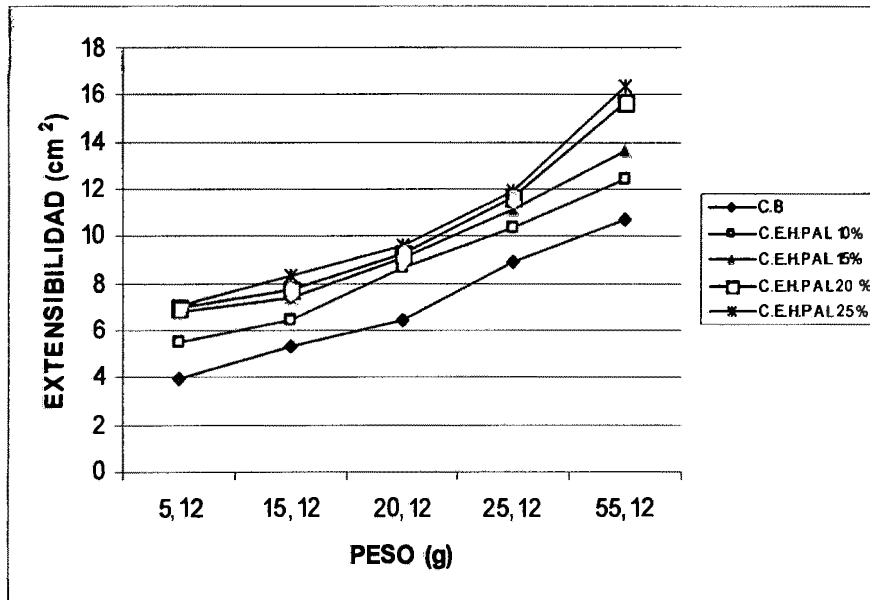
<b>MÉTODO</b>	<b>SOLVENTE</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>TIPO DE EMULSIÓN</b>
Dilución	Agua purificada	Todas las cremas son homogéneas y solubles	O/W



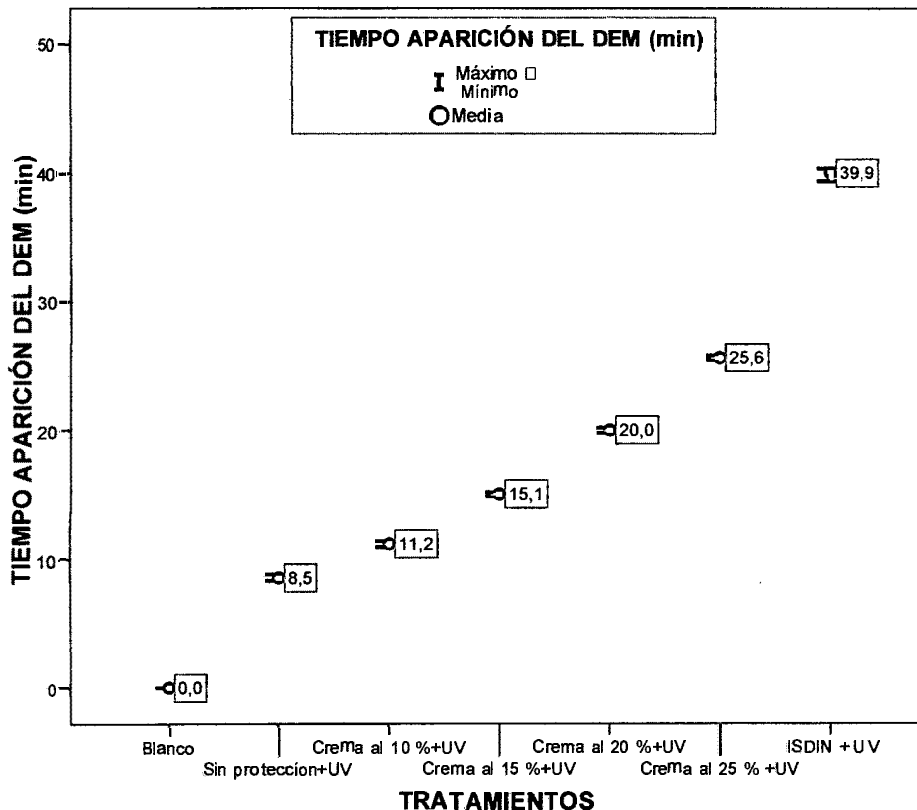
**CUADRO Nº 6:** Valores de la irritabilidad dérmica primaria en conejos según la escala de Draize de las cremas elaboradas a base de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* "abeja". Ayacucho – 2010.

PARÁMETRO	FÓRMULA	RESULTADOS			
		24HORAS		72HORAS	
		Er.	Ed.	Er.	Ed.
<b>IRRITABILIDAD DÉRMICA PRIMARIA</b>	Crema E.H.P al 10%	0	0	0	0
	Crema E.H.P al 15%	0	0	0	0
	Crema E.H.P al 20%	0	0	0	0
	Crema E.H.P al 25%	0	0	0	0
	Crema Base	0	0	0	0

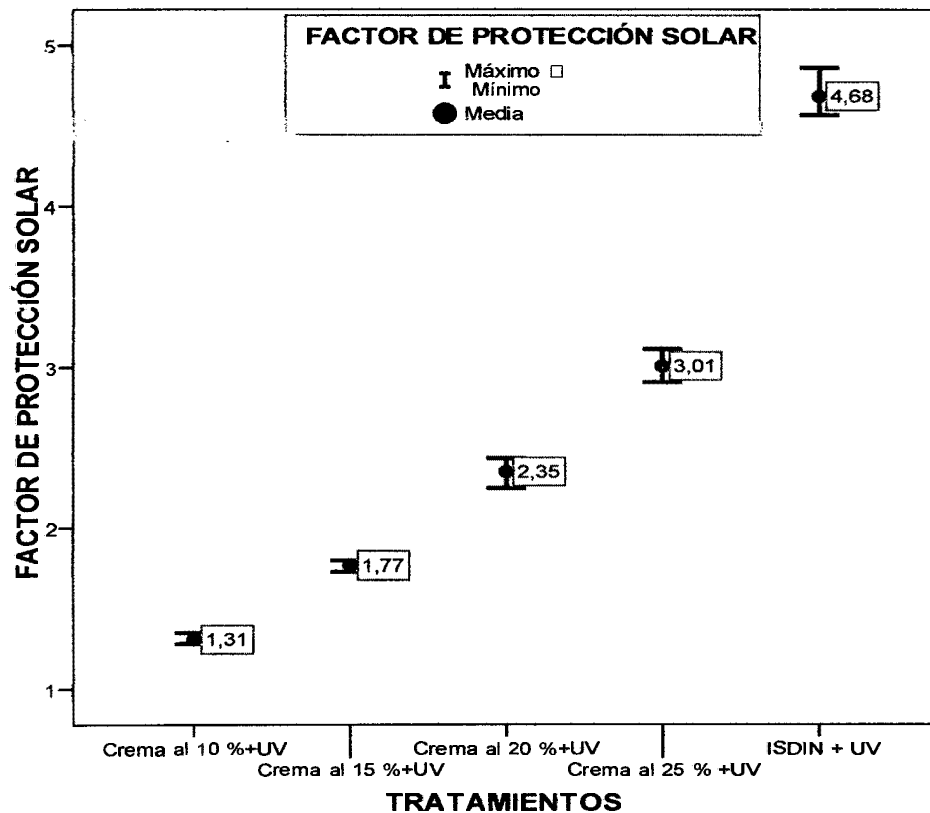
LEYENDA:  
Er. Eritema  
Ed. Edema



**GRÁFICO Nº 01.** Variación de la extensibilidad vs. peso aplicado en pruebas de cremas elaboradas a base de extracto hidroalcohólico de propóleo (C.E.H.P) de *Apis mellifera* "abeja". Ayacucho – 2010.



**GRÁFICO Nº 02:** Valores promedios del tiempo de aparición del DEM (Dosis Erimatososa Mínima) frente al empleo de crema elaborada a base cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja”, un blanco y un control; probadas en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.



**GRÁFICO Nº 03:** Valores promedios del factor de protección solar (FPS) de la crema elaborada a base cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" y un control probadas en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.

**CUADRO N° 07.** Evaluación de las lesiones producidas en la piel de los animales de experimentación irradiados con luz UV más cremas elaboradas con extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera*. Ayacucho – 2010.

Observación (días)	Control	Sin protección + UV	Crema al 10 % + UV	Crema al 15 % + UV	Crema al 20 % + UV	Crema al 25 % + UV	ISDIN 60 + UV
0	Piel normal	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema
1	Piel normal	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema
2	Piel normal	Eritema intenso	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema
3	Piel normal	Intenso eritema; orejas y lomos. costra descamativas	Eritema intenso	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema	Ligero eritema
4	Piel normal	Intenso eritema; orejas y lomos. costra descamativas	Intenso eritema; orejas y lomos. costra descamativas	Intenso eritema	Intenso eritema	Ligero eritema	eritema
5	Piel normal	Intenso eritema. Costra descamativas	Intenso eritema; orejas y lomos. costra descamativas	Intenso eritema; orejas y lomos. costra descamativas	costra descamativas	costra descamativas	Inicio remisión de las lesiones
6	Piel normal	Inicio remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Remisión casi total de las lesiones
7	Piel normal	Remisión de las lesiones	Remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Inicio remisión de las lesiones	Remisión casi total de las lesiones	Remisión casi total de las lesiones

## V. DISCUSIÓN

Se propuso demostrar que el propóleo utilizado en varias afecciones contiene principios activos con capacidad fotoprotectora, siendo los compuestos de naturaleza fenólica como los flavonoides, fenoles responsables de dicha actividad.

Ramírez (2003) reporta que el propóleo de *Apis mellifera* "abeja" presenta compuestos de naturaleza flavonoide, determinados cualitativamente por la prueba de Shinoda y corroboradas por cromatografía de capa fina de igual manera para identificar taninos y fenoles por el ensayo de cloruro férrico.

En el cuadro N° 3, señala la presencia de taninos y flavonoides mediante la reacción con cloruro férrico y shinoda obteniéndose una coloración azul negrusca y rojo naranja, respectivamente. Ortiz (2002) reporta que las reacciones de coloración se deben a la presencia de flavonoides y taninos.

Según Almira y Ubillús (2004) en el propóleo se han identificado más de 160 compuestos químicos, entre los más importantes se tiene a: Ácido benzoico, ácido gálico, ácido caféico, ácido cinámico, ácido fenílico, ácido isofenílico, vainillina, isovainillina, flavonoides, flavonas, Aluminio, Plata, Bario, Boro, Cromo, Cobalto, Cobre, Estaño, Hierro, Magnesio, Manganeso, Molibdeno, Níquel, Selenio, Silicio, Titanio, Vanadio y Zinc; Vitaminas: Pro- vitamina A, vitamina B1 (Tiamina), B2 (Riboflavina) y B3 (Niacina).

En el cuadro Nº 4 se muestran las características organolépticas y el pH de las cremas, siendo: pH de la crema de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* al 20% con pH 5,69; crema de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* al 25% con pH 5,63; las cuales indican que se tratan de cremas ligeramente ácidas.

El ungüento hidrófilo denominado también crema de emulsión O/W, son inestables a un pH inferior a 5,00 como describe Harry (1990), por tanto el pH de las cremas al 20% y 25% de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* están dentro de las especificaciones que oscilan entre 5,00 a 7,50. Es necesario tener en cuenta que el pH de la piel oscila entre 4,5 y 5,5 dependiendo de los individuos y de las zonas donde habitan como menciona Helman (1981). Cuando el pH de la superficie es más alcalina, se produce prurito y dermatitis de carácter inespecífico, las que se evitan con la formulación de cremas y geles con pH cercano a la piel (Orlandini, 2004).

En el cuadro Nº 5 se observa que por el método de dilución las cremas de extracto hidroalcohólico de propóleo del *Apis mellifera* "abeja" son solubles todas en agua y presentan un aspecto homogéneo; por lo tanto esta dispersión homogénea en agua nos indica que la fase externa es acuosa, es decir una emulsión O/W. Según Fernández (2005) se les denomina emulsiones O/W a las formas farmacéuticas constituidas por dos fases, una lipófila y otra acuosa, debido a que la fase externa es de naturaleza acuosa por la presencia en su composición de emulsificantes tipo O/W.

En un estudio de formulación de formas farmacéuticas semisólidas es necesario evaluar el comportamiento reológico por tener una gran influencia en la estabilidad y en la textura de los mismos como menciona Signorelli e Isla (2005), en este estudio se consideran el índice de extensibilidad. El índice de extensibilidad proporciona una medida del umbral de deformación del sistema, y

como parte del estudio reológico se presenta en el gráfico N° 1, donde se puede observarse que la extensibilidad es aproximadamente proporcional al peso aplicado (a mayor peso, mayor extensibilidad) llegando a un punto donde al aplicar mayor peso la extensibilidad es constante.

El gráfico N° 1 muestra que la crema al 25% de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* tiene mayor extensibilidad aplicando 55,12 g de peso, igual a 16,3 cm<sup>2</sup>, seguido de la crema al 20% con 15,7 cm<sup>2</sup>, seguido de la crema al 15% con 13,7 cm<sup>2</sup>, seguido de la crema al 10% con 12,4 cm<sup>2</sup> y la crema base con 10,7 cm<sup>2</sup>. Estos datos indican que las cremas poseen una buena extensibilidad en la zona donde van a actuar, siendo fácilmente deformable y resultando más manejable por parte del paciente.

Dentro del campo de la toxicología experimental Rodríguez y colb., 1996 menciona a la toxicología aguda que incluye el test de irritabilidad dérmica descrito por Draize, esta prueba brinda información sobre los efectos adversos que pueden observarse, luego de la aplicación dérmica del producto, ofrece datos de toxicidad inicial para fines de regulación, calificación, clasificación y estudios posteriores de toxicidad crónica y subcrónica dérmica del producto.

El cuadro N° 6 presenta los resultados de la irritabilidad dérmica de la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera*, a las 24 horas no se observó ningún tipo de eritema ni edema para las formas farmacéuticas en estudio, de igual manera a las 72 horas, por lo tanto el resultado de irritabilidad dérmica primaria de las cremas es igual a cero, aplicando la escala de Draize se clasifican en las cremas no irritantes.

La radiación ultravioleta procedente de la luz solar ejerce efectos beneficiosos sobre nuestro organismo, a través de su acción sobre la piel, como la síntesis de vitamina D, pero también es responsable de efectos adversos. Entre estos últimos, el efecto mas evidente e inmediato es la aparición del eritema solar, o



quemadura de primer grado, especialmente visible en los pieles de tipo I y II, pero también en los del tipos III durante las primeras exposiciones (Vitale, 2002). Uno de los problemas que plantea la exposición a los rayos UV es establecer el nivel de seguridad aceptable que permita al organismo asimilar la energía recibida sin riesgos. Hasta ahora, la fotoprotección mediante filtros solares se basa en la capacidad de dichos filtros para absorber la energía UV, medida según el denominado Factor de Protección Solar (FPS). En otro orden de las cosas, no debemos olvidar que la exposición al sol se hace de manera continua e inconsciente a lo largo de nuestra vida, fuera de las exposiciones puntuales que señalamos antes (deportes, verano, etc.). Así, la piel de la cara, cuello y manos están expuestas al sol de manera permanente. En los meses de verano, esta exposición se extiende a brazos, pecho y piernas de manera importante. Es bien conocido que las alteraciones cutáneas debidas a la exposición solar, desde las más frecuentes y benignas (alteraciones de la pigmentación) a las más graves (elastosis y cáncer de piel) se dan preferentemente en las zonas expuestas al sol. Por ello, consideramos necesario impulsar una nueva cultura en temas de fotoprotección, que debería incluir una actitud de protección activa de la piel frente a esa agresión continua y solapada de la radiación UV, que no manifiesta sus efectos hasta pasados de muchos años.

Se evaluó la actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" luego de la administración por vía tópica sobre el lomo depilado de las animales de experimentación. Se utilizó el método COLIPA *in vivo* basado en el método de Shulze (Coba, 2007). Que se basa en la aparición de la Dosis Erimatosa Mínima (DEM).

El gráfico N° 2, muestra la variación de la aparición de la Dosis Erimatosa Mínima (DEM) de los diferentes tratamientos ensayados, donde se expresa la aparición de un ligero eritema a un determinado tiempo debido a la radiación

UV. A mayor tiempo de aparición de la Dosis Erimatosa Mínima (DEM) significa que la crema de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* protege a la piel de las lesiones de la radiación UV, comparando esta actividad frente a un patrón como la crema fotoprotectora ISDIN® FPS 90.

Las cremas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* al 10%, 15%, 20%, 25% presentan diferencias significativas entre los diferentes tratamientos analizados con un nivel de confianza del 95% como se observa en la tabla N° 1 (Anexo N° 13). Por lo tanto las cremas preparadas con el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* al 20% y 25% presentan mayor tiempo en la aparición de la Dosis Erimatosa Mínima (DEM) en comparación con las cremas al 10% y 15%.

En cuanto a la evaluación del Factor de Protección Solar (FPS) entre las cremas estudiadas, las que contienen productos ricos en flavonoides, como el caso del propóleo, presentan valores de FPS más altos. Por ejemplo, Racan (2002) desarrolló un protector solar con líquenes ricos en ácido úsnico y analizó la capacidad fotoprotectora del *Peumus boldus* y de los compuestos aromáticos de líquenes chilenos que viven en las áreas de incidencia alta de radiación ultravioleta y encontró FPS máximo de 10 para las formulaciones producidas con los líquenes y FPS igual a 3.4 para la formulación con *Peumus boldus*.

El gráfico N° 3 muestra la diferencia estadística entre las cuatro concentraciones de la crema de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* como se muestra en la tabla N° 6 (Anexo N° 15). Al realizar el análisis de varianza se halló que cada uno de los tratamientos son diferentes entre sí, siendo el que mayor protección solar presentó la crema al 25%, mientras que el último fue la crema al 10%. Por lo tanto a mayor concentración de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* mayor Factor de Protección Solar.

Hollands y Gomez (2003) demostraron por observación macroscópica que la aplicación tópica de un extracto de cordón umbilical humano en forma de gel, es capaz de proteger la piel de ratones albinos Balb/C de los efectos perjudiciales producidos por la exposición de estos a una fuente artificial de radiaciones ultravioleta.

En el cuadro N° 7 se presenta las observaciones realizadas a los animales inmediatamente después de la exposición a la radiación UV, así como durante el primer y segundo día después, las diferencias encontradas entre los distintos grupos fueron apenas perceptibles, limitándose a un intenso eritema en los grupos II, III y IV (Anexo N° 7). Más ligero aún pero algo evidente en los grupos V, VI y VII (Anexo N° 8).

Una situación muy distinta se observó, sin embargo, en el tercer, cuarto y quinto día se observó que los animales del grupo II presentaron eritema intenso en las orejas y lomo y posteriormente lesiones costro descamativas en ambas regiones. Mientras el grupo III presentó las lesiones costro descamativas, al quinto día al igual que los animales del grupo IV (Anexo N° 10).

El grupo VII, sin embargo el primer y segundo día mostró eritema apenas perceptible y posterior al cuarto día mostró características normales de la piel. Finalmente en relación con el grupo V y VI se observó un leve eritema de orejas y lo así como ligera descamación de lomos en algunos animales, lo cual denota una fotoprotección de la crema elaborada de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* (Anexo N° 12).

Al sexto día de iniciado el experimento, se observó una remisión parcial de las alteraciones, las cuales fueron desapareciendo de forma gradual hasta resultar prácticamente imperceptibles una semana después.

La actividad fotoprotectora se debe a que el propóleo tiene, por el contrario, una capacidad de absorción de las radiaciones solares no despreciable. Es una

resina formada por una mezcla de ceras producidas por las abejas para construir colmenas. Su composición es compleja y en ella se pueden encontrar un cierto número de moléculas capaces de absorber los rayos UVB y UVA, (ácidos cefeico, cumarínico, ferúlico, benzoico, flavonoides etc.).

Los flavonoides absorben radiación electromagnética en la zona UV - VIS y de esta forma representan una protección natural para las plantas contra la radiación UV del sol. Esto explica el efecto fotoprotector sobre la piel de ciertos preparados en base a propóleos (Fernández, 2005).

## VI. CONCLUSIONES

1. Las cremas elaboradas con el extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* “abeja” al 10%, 15%, 20% y 25% presentaron una actividad fotoprotectora que fue variando de acuerdo a la concentración del extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera*.
2. Los principales metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja” fueron flavonoides, taninos y fenoles.
3. Se formuló y se elaboró las cremas a concentraciones de 10%, 15%, 20% y 25%. Cada crema cumplió los parámetros correspondientes a una forma farmacéutica semisólida.
4. El Factor de Protección Solar (FPS) óptimo, presentó la crema de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja” al 25% con un FPS de 3,01.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- 1. Realizar estudios de estabilidad y clínicos en modelos biológicos de cremas O/W elaboradas a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* a las concentraciones de 25%.**
- 2. Estandarizar el propóleo ayacuchano, de acuerdo a las normas internacionales.**
- 3. Realizar recomendaciones adecuadas sobre el peligro de las radiaciones solares a toda la población.**
- 4. Informar a la comunidad sobre medicamentos y cosméticos que sensibilizan la piel a los efectos de la radiación UV.**
- 5. Fomentar la investigación de los efectos sobre la salud relacionados con la radiación UV y de las medidas de protección.**

### VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Almira, J., Ubillús, M.** 2004. Estandarización del propóleo de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú) como materia prima para su utilización a nivel industrial. Tesis Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú.
2. **Apaza, N.** 2003. Elaboración y evaluación de una forma galénica de origen vegetal con actividad fotoprotectora. Tesis Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. UMSA, La Paz – Bolivia
3. **Asis, M.** 1996. Apiterapia para todos como usar los siete productos de la colmena para curar. Editorial Científico – Técnico. La Habana – Cuba.
4. **Bracho, J.** 1999. Propóleo: Características, Producción y Calidad.
5. **Bruneton, J.** 1991. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. Editorial Acribia S.A Zaragoza–España.
6. **Cabrera, N.** 2005. Formulación y evaluación de la estabilidad de la crema elaborada con extractos de la raíz del *Senecio rudbeckiaefolius* *Meyen & Walpers* “remilla” y del propóleo de *Apis mellífera* “abeja”. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH, Ayacucho – Perú.
7. **Cañarte, C., Saluns, G.** 2005. Índice ultravioleta como indicador de riesgo en la piel. Revista Dermatológica Uruguay. Edición especial Fotobiología N°4.
8. **Coba, L.** 2007. Evaluación de la capacidad fotoprotectora y antioxidante de aminoácidos tipo micosporina. Aplicaciones biotecnológicas. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga - España.
9. **Cuellar, A.** 1998. Investigaciones cubanas sobre propóleo Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Matanzas, Medicina Humana – Cuba.
10. **Duro, E., Campillos, P., Causín, S.** 2003. Radiación solar: El sol y los filtros solares. Editorial La Torre S.A Madrid– España.
11. **Evans, W.** 1991. Farmacognosia. 3ra Edición. Nueva Editorial Interamericana S.A Mc Graw Hill – México.
12. **Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.** 1998. Dirección General de Control de Insumos para la Salud – Secretaria de Salud. 5<sup>ta</sup> Edición- México
13. **Fernández, V.** 2005. Cosmética y Dermofarmacia. 2<sup>da</sup> Edición. Editorial Formación Alcalá. Alcalá – España.
14. **Gómez, J., Ortega, V., Álvarez, N., Yáñez, J.** 2007. Modelo experimental de fotoenvejecimiento cutáneo por radiación ultravioleta A. Revista Española de Patología. Vol. 40, N° 2. España.

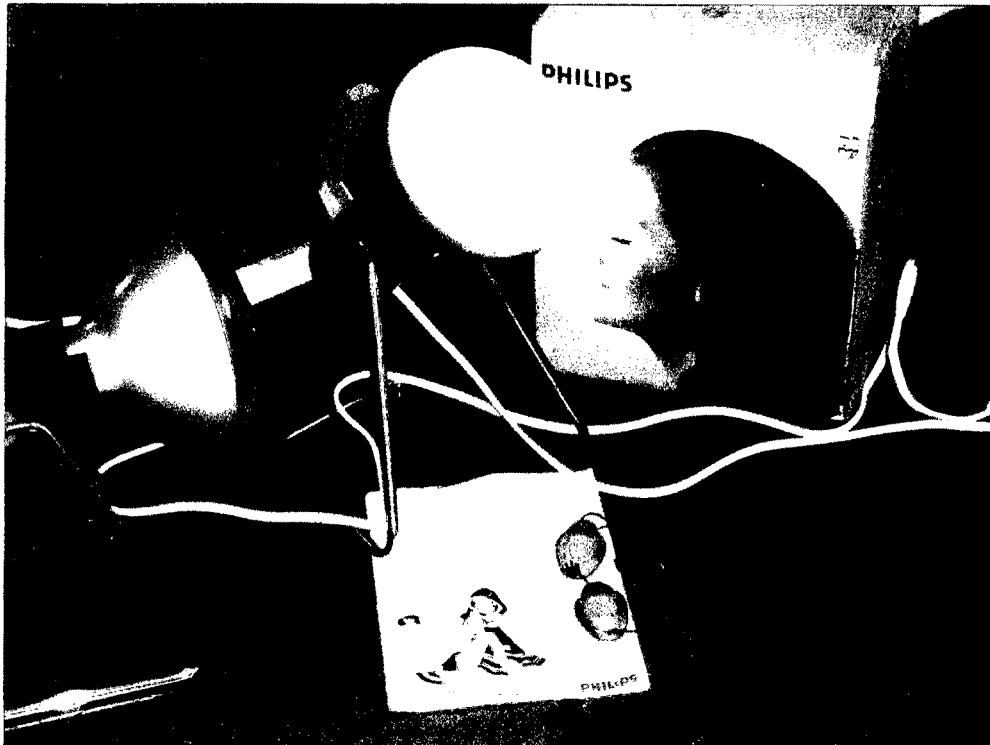
15. **González, J.** 2006. Fotoprotección. Revista peruana de Dermatología Vol. 10 N°1 Lima – Perú.
16. **Harry, W.** 1990. Cosmetología. Editorial Díaz de Santos S.A Madrid – España.
17. **Helman, J.** 1981. Farmacotecnia. Teoría y Práctica. 1<sup>ra</sup> edición. Compañía editorial Continental S.A México.
18. **Hollands, I., Gómez, H.** 2003. Modelo Biológico para evaluar la acción fotoprotectora de un extracto de cordón umbilical humano. Revista cubana del centro de Histoterapia Placentaria. Vol. 3 N°1. Habana - Cuba.
19. **Lecha, M.** 2000. Evaluación del factor de protección frente a UVA *in vivo*. Med Cut ILA.
20. **Martine, M.** 2005. Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmetología. Segunda Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
21. **Mendoza, G.** 2008. Actividad cicatrizante de una crema elaborada a base de la resina y del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Schinus molle* L “molle”. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH, Ayacucho– Perú.
22. **Miranda, M., Cuellar, A.** 1996. Manual de prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad la Habana. Ciudad Habana.
23. **Mulero, M.** 2004. Efecto de la radiación ultravioleta (RUV) sobre los procesos de estrés oxidativo e inmunodepresión cutáneas. Efecto protector de los filtros solares. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Rovira I Virgili – España.
24. **Orlandini, M.** 2004. Piel sana y manto ácido. Folia dermatológica del Perú. Lima.
25. **Ortiz, A.** 2002. Propiedad antiinflamatoria del propóleo del *Apis mellifera* “abeja”. Ayacucho – Perú. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH, Ayacucho – Perú.
26. **Ramírez, A.** 2003. Evaluación *in Vitro* de la actividad antioxidante del extracto etanólico del propóleo de *Apis mellifera* “abeja” Ayacucho – Perú. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH, Ayacucho – Perú.
27. **Racan, A.** 2002. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. Santiago–Chile.



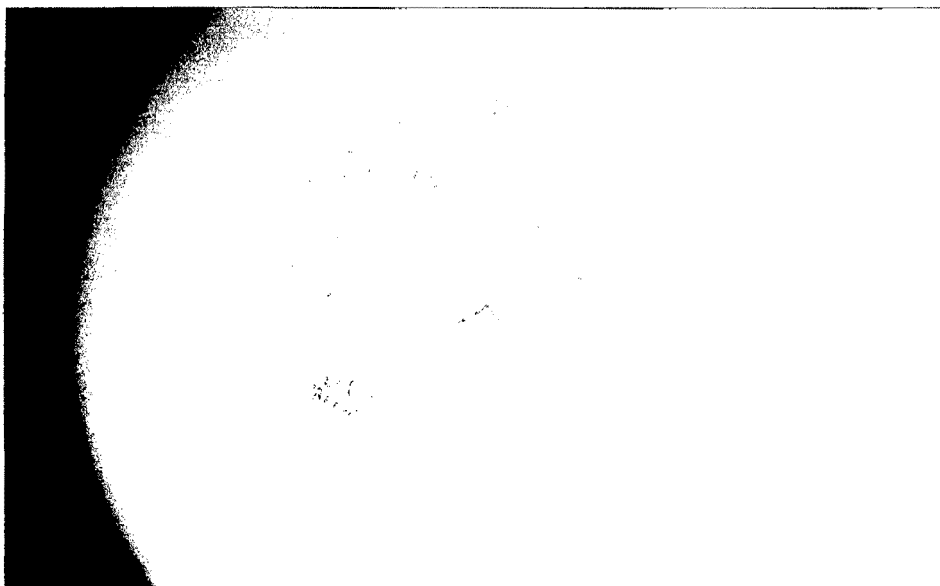
28. **Rodríguez, A., León, M., Hernández, A., Junco, E.** 1996. Prueba de irritabilidad dérmica primaria del *Plantago major* L. Revista Cubana de Plantas Medicinales. Camaguey – Cuba.
29. **Salamanca, G.** 2002. Origen, naturaleza y características de los propóleos. Seminario Americano de Apicultura. Memorias. Tuxtla – México.
30. **Sánchez, L., Lanchita, P.** 2002. Fotoprotectores tópicos. Revista Peruana de Dermatología. Vol. 4. Nº 1 Lima – Perú.
31. **Signorelli, I., Isla, M.** 2005. Elaboración de una crema para el uso tópico a base de *Urtica dioica* L. Revista de Farmacia y Bioanálisis. Vol. 47 Universidad de los Andes. Mérida – Venezuela.
32. **Trillo, F.** 1993. Tratado de Farmacia Galénica. 1ª edición. Editorial Luzán S.A Madrid.
33. **Trullas, C.** 2004. Evaluación del FPS de Protección frente al UVA. Lab. ISDIN. Curso de SEQC. Barcelona – España.
34. **Vitale, M.** 2002. Fotoprotección: Conceptos Básicos y Actualización. Revista Peruana de Dermatología. Vol 2 Nº 3 Lima – Perú.

## **IX.ANEXOS**

**ANEXO Nº1**



**Fotografía Nº 01: Focos UV (A- B) PHILIPS HB- 12301.**



**Fotografía Nº 02: Foco UV (A- B) PHILIPS HB -12301.**

## ANEXONº2



**Fotografía Nº 03:** Animales de experimentación sometidos a una fuente de luz artificial UV en una cámara de tratamiento UV. Laboratorio de Farmacología de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho– 2010.

### ANEXO N°3

**CUADRO N° 08:** Escala descrita por Draize para la evaluación de lesiones en la piel (farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 1998).

<b>REACCIÓN CUTÁNEA</b>	<b>VALOR</b>
<b>A) ERITEMA Y FORMACIÓN DE ESCARAS</b>	
No eritema	<b>0</b>
Eritema muy ligero (apenas perceptible)	<b>1</b>
Eritema bien definido	<b>2</b>
Eritema de moderado a severo	<b>3</b>
Eritema severo (rojo betabel) a formación ligera de escaras (heridas en profundidad)	<b>4</b>
<b>B) FORMACIÓN DE EDEMA</b>	
No edema	<b>0</b>
Edema muy ligero	<b>1</b>
Edema ligero (bordes del área conspicuos por elevación definida)	<b>2</b>
Edema moderado (elevación de aproximadamente 1 mm)	<b>3</b>
Edema severo (elevación mayor de 1 mm. y extendiéndose mas allá del área de exposición)	<b>4</b>

#### ANEXO N°4

**CUADRO N° 09:** Formulación de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja".

PRINCIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	FÓRMULAS			
	1	2	3	4
EXTRACTO BLANDO DEL PROPÒLEO	10%	15%	20%	25%
VASELINA LÍQUIDA	5	5	5	5
PROPILENGLÍCOL	10	10	10	10
PARABENOS	3	3	3	3
CERA LANETT SX	15	15	15	15
AGUA DESTILADA CSP	100	100	100	100

## ANEXONº5



**Fotografía Nº 04:** Concentración de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* en baño maría, laboratorio de Bromatología Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. Ayacucho – 2010.

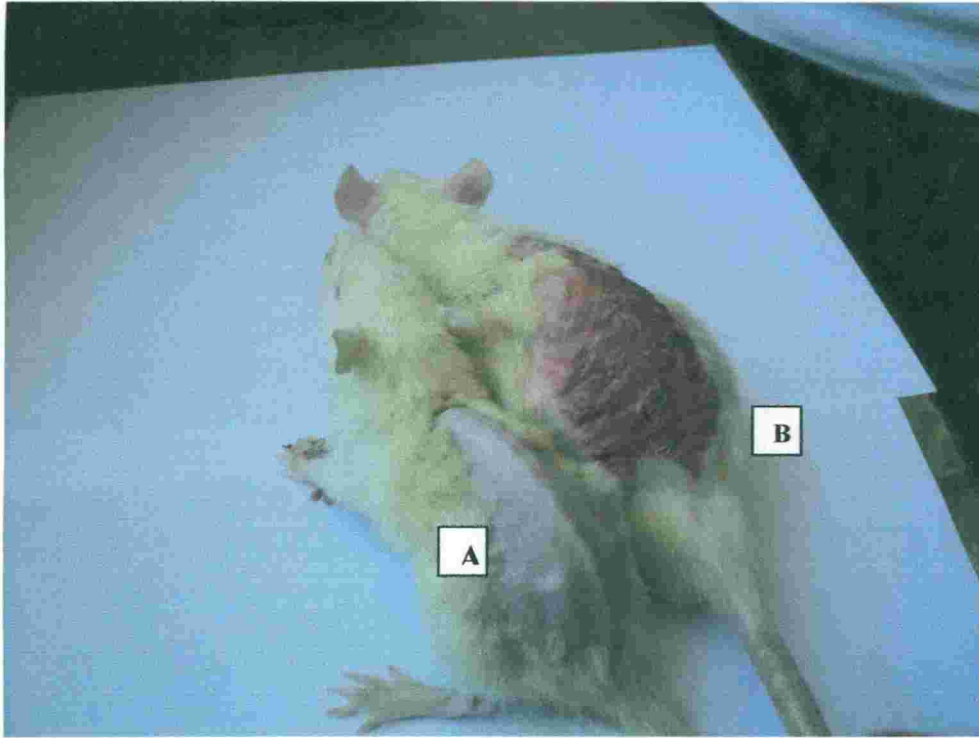
## ANEXON°6



**Fotografía N° 05:** Materiales e insumos para elaborar las cremas de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja”. Laboratorio de Bromatología Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH. Ayacucho –2010.

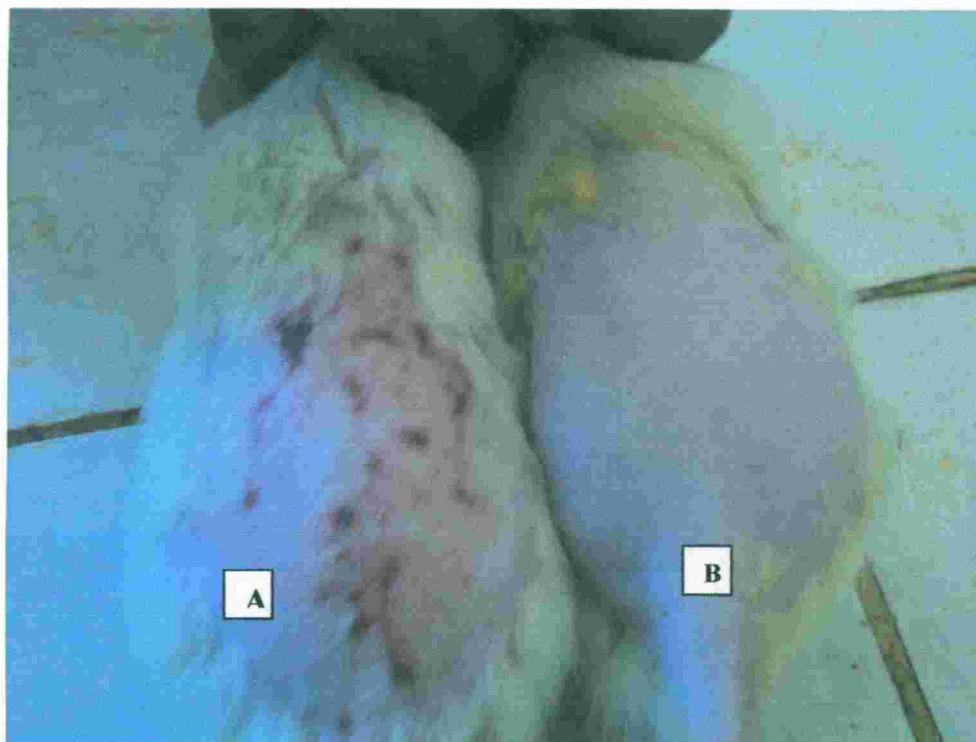


## ANEXO N°7



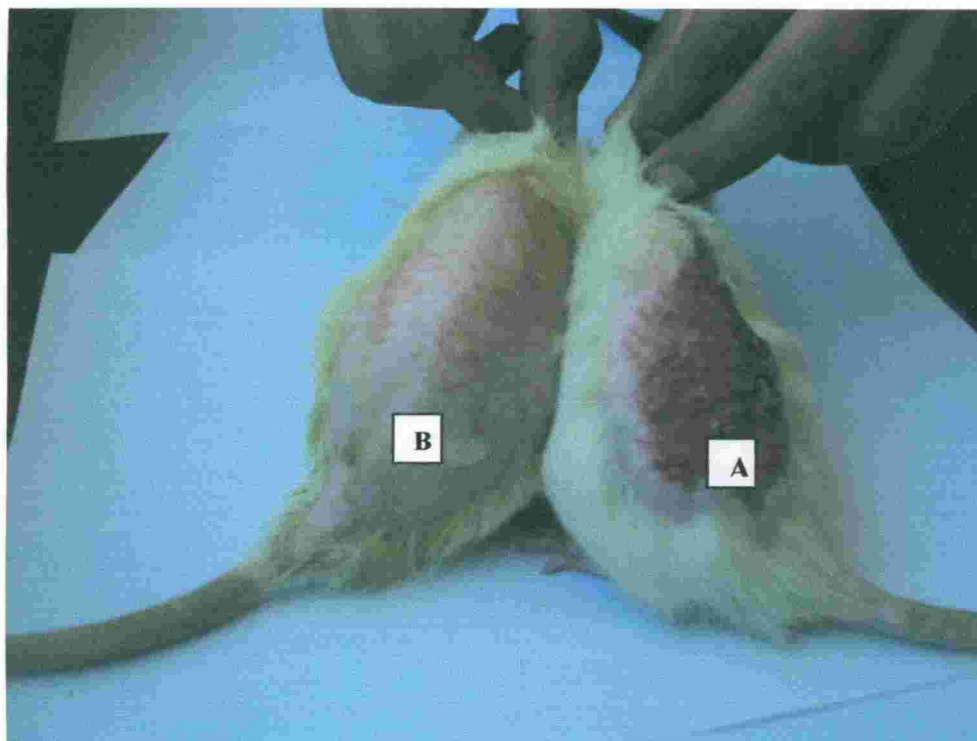
**Fotografía N° 06:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal A control y otro animal B irradiado. Laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho–2010.

## ANEXO N°8



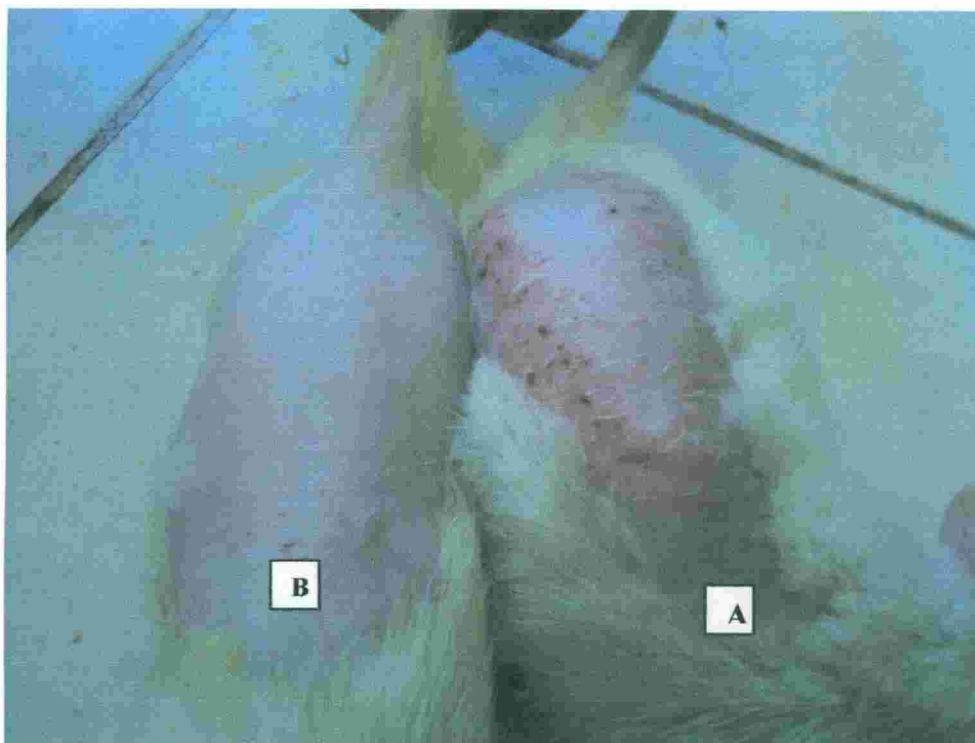
**Fotografía N° 07:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal A: irradiado más crema de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* "abeja" al 15% y otro animal B: irradiado más crema de E.H.P al 25%. Laboratorio de Toxicología "Rubén Gil Salas" de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho – 2010.

## ANEXO N°9



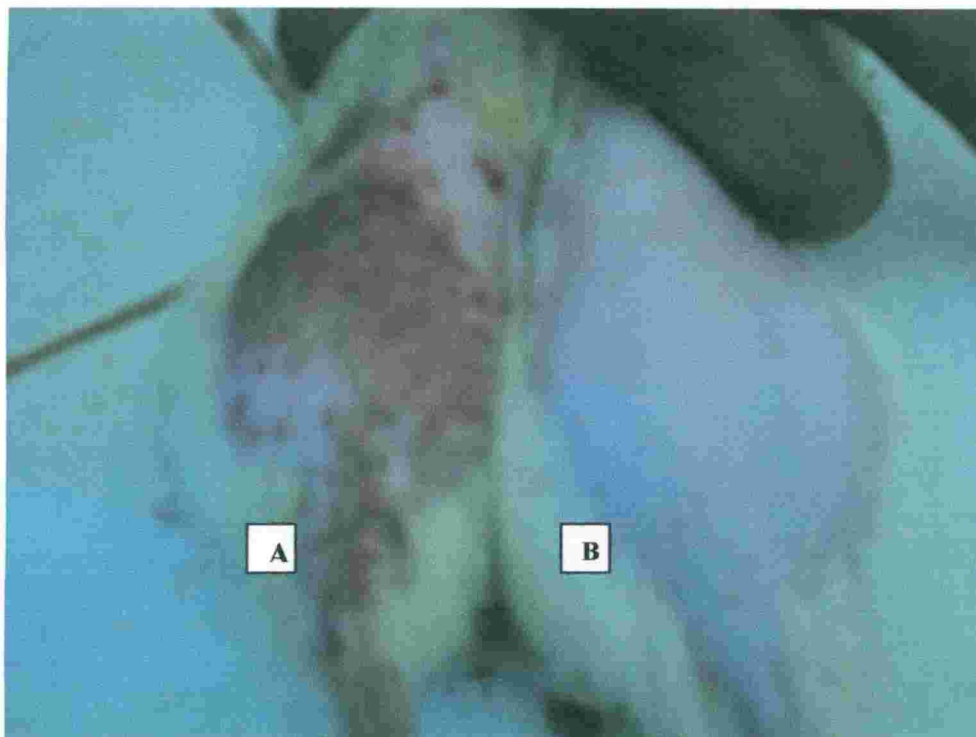
**Fotografía N° 08:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal irradiado A y otro animal B irradiado más crema de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* “abeja” al 20%. Laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho – 2010.

## ANEXO Nº 10



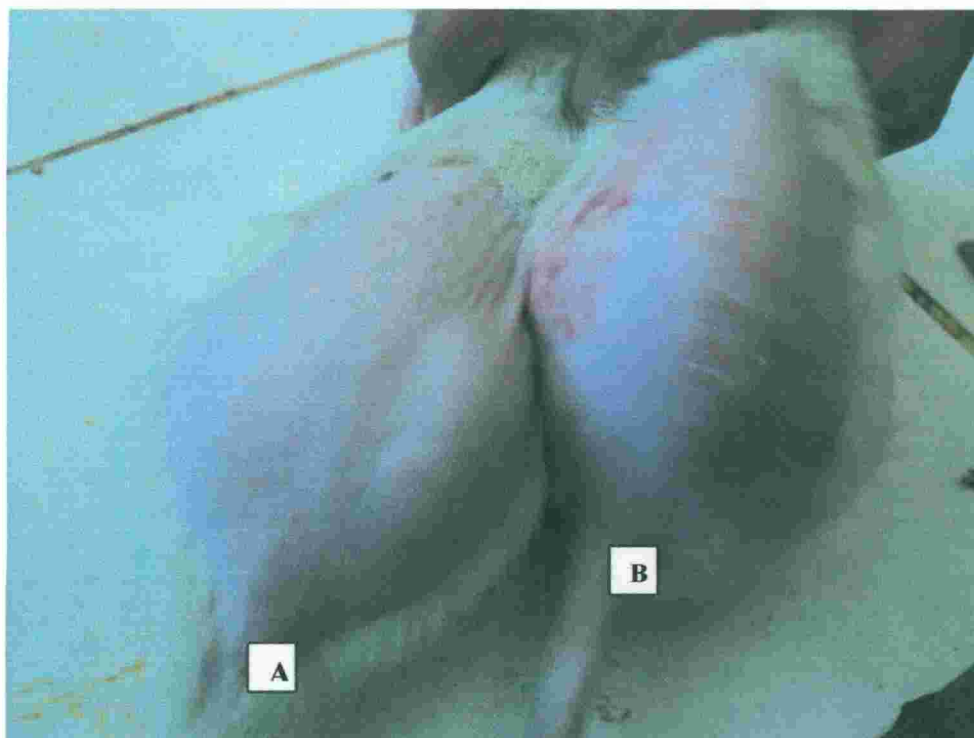
**Fotografía Nº 09:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal irradiado A, más crema de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* “abeja” al 20 % y otro animal B irradiado más crema de E.H.P al 25%. Laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho–2010.

## ANEXO Nº 11



**Fotografía N° 10:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal A irradiado más crema de extracto hidroalcohólico de propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* "abeja" al 10 % y otro animal B irradiado más crema de E.H.P al 25%. Laboratorio de Toxicología "Rubén Gil Salas" de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho – 2010.

## ANEXO Nº 12



**Fotografía Nº 11:** Comparación de las lesiones producidas por la luz UV de un animal A irradiado más crema fotoprotectora ISDIN® FPS 90 y otro animal B irradiado más crema de extracto hidroalcohólico del propóleo (E.H.P) de *Apis mellifera* “abeja” al 25%. Laboratorio de Toxicología “Rubén Gil Salas” de la E.F.P Farmacia y Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho – 2010.

### ANEXO Nº 13

**CUADRO Nº 10:** Estadísticos descriptivos para tiempo aparición del DEM (min) frente al empleo de crema elaborada a base cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo, un blanco y un control, probadas en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.

TRATAMIENTOS	N	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza (95%)		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
Blanco	3	0	0	0	0	0	0
Sin protección+UV	3	8,53	0,25	7,91	9,16	8,30	8,80
Crema al 10%+UV	3	11,17	0,25	10,54	11,79	10,90	11,40
Crema al 15%+UV	3	15,07	0,15	14,69	15,45	14,90	15,20
Crema al 20%+UV	3	20,03	0,21	19,52	20,55	19,80	20,20
Crema al 25% +UV	3	25,63	0,15	25,25	26,01	25,50	25,80
ISDIN + UV	3	39,93	0,55	38,57	41,30	39,30	40,30
Total	21	17,20	12,30	11,60	22,79	0,00	40,30

**CUADRO Nº 11:** Análisis de varianza para tiempo aparición del DEM frente al empleo de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja", un blanco y un control, probada en ratas albinas Holtzman. Ayacucho–2010.

### ANOVA

TIEMPO APARICIÓN DEL DEM (min)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3023,570	6	503,928	6783,650	,000
Intra-grupos	1,040	14	,074		
Total	3024,610	20			

**ANEXO N°14**

**CUADRO N° 12:** Test de Tukey para tiempo aparición del DEM frente al empleo de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.

**TIEMPO APARICIÓN DEL DEM (min)**

HSD de Tukey

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa= .05							
		1	2	3	4	5	6	7	1
Blanco	3	,000							
Sin protección+UV	3		8,533						
Crema al 10%+UV	3			11,167					
Crema al 15%+UV	3				15,067				
Crema al 20%+UV	3					20,033			
Crema al 25% +UV	3						25,633		
ISDIN + UV	3							39,933	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. A Usar el tamaño muestral de la media armónica= 3,000.



## ANEXO Nº 15

**CUADRO Nº 13:** Estadísticos descriptivos para el factor de protección solar para la crema elaborada a base de cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo, probadas en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.

TRATAMIENTOS	N	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza (95%)		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
Crema al 10%+UV	3	1,31	0,04	1,22	1,40	1,28	1,35
Crema al 15%+UV	3	1,77	0,04	1,68	1,85	1,73	1,80
Crema al 20%+UV	3	2,35	0,09	2,12	2,58	2,25	2,43
Crema al 25%+UV	3	3,01	0,10	2,76	3,25	2,91	3,11
ISDIN+UV	3	4,68	0,15	4,30	5,06	4,57	4,86
Total	15	2,62	1,22	1,95	3,30	1,28	4,86

**CUADRO Nº 14:** Análisis de varianza para el factor de protección solar para la crema elaborada a base a cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* "abeja", un blanco y un control, probada en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010.

### ANOVA

#### FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20,768	4	5,192	586,137	,000
Intra-grupos	,089	10	,009		
Total	20,857	14			

## ANEXON°16

**CUADRO Nº 15:** Test de Tukey para el factor de protección solar de la crema elaborada a base de cuatro concentraciones de extracto hidroalcohólico de propóleo de *Apis mellifera* “abeja” y un control, probadas en ratas albinas Holtzman. Ayacucho–2010.

HSDde Tukey

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa= .05				
		2	3	4	5	1
Crema al 10 %+UV	3	1,309068				
Crema al 15 %+UV	3		1,766308			
Crema al 20 %+UV	3			2,349480		
Crema al 25 % +UV	3				3,005842	
ISDIN + UV	3					4,682378
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Usa el tamaño muestral de la media armónica= 3,000.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	MATERIALES	VARIABLE INDEPENDIENTE	POBLACIÓN.
<p>Actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" en ratas albinas Holtzman sometidos a una fuente de radiación ultravioleta (UV) artificial?</p> <p>Ayacucho - 2010</p>	<p>¿Tendrá actividad fotoprotectora la crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" en ratas albinas Holtzman al ser sometidos a una fuente de radiación ultravioleta (UV) artificial?</p>	<p><b>OBJETIVOS GENERALES</b> Determinar la actividad fotoprotectora de crema elaborada a partir de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" en ratas albinas Holtzman</p> <p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> - Identificar los principales metabolitos que se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja". - Formular, y elaborar, una crema fotoprotectora a base de extracto hidroalcohólico del propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" al 10%, 15% y 20% y 25%. - Determinar el FPS (Factor de Protección Solar) óptimo <i>in vivo</i> de la crema elaborada a partir de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" mediante el método COLIPA (THE EUROPEAN COSMETICS ASSOCIATION).</p>	<p><b>PROPÓLEO.</b> Las propiedades y el uso se conocen desde la antigüedad. Se usa para combatir, una serie de infecciones. El propóleo es resinoso balsámico de color verde pardo castaño incluso casi negro. Contiene flavonoides, derivados del alcohol benzílico, ácido benzoico, cumarinas, taninos, vitaminas.</p> <p><b>PIEL.</b> Es el órgano más extenso de nuestro cuerpo, su estructura esta conformado por la epidermis, dermis e hipodermis</p> <p><b>RADIACIÓN SOLAR.</b> Es necesaria para la vida, pero a exposiciones largas es dañina para la salud de la piel. La radiación solar presenta rayos UV-C, rayos UV-B, rayos UV-A, luz visible, luz infrarrojo.</p> <p><b>ÍNDICE ULTRAVIOLETA.</b> Es la medida de la intensidad de la radiación UV del sol incidente sobre la superficie de la tierra.</p> <p><b>FOTOPROTECCIÓN.</b> Se tiene a la fotoprotección natural y artificial</p> <p><b>FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR.</b> Es la relación entre el tiempo de exposición necesario para producir eritema con protección y sin protección.</p> <p><b>EFFECTOS DEL SOL EN LA PIEL.</b> Se tiene a la urticaria solar, fotosensibilidad y fotocarcinogénesis.</p> <p><b>FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS</b> Son preparaciones destinadas a ser aplicadas sobre la piel o ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local</p> <p><b>CREMAS.</b> Las cremas son preparados emulsionados de constitución pastosa destinada al cuidado y embellecimiento de la piel constituidas por una base que contiene cuerpos grasos, agua, agentes emulsificantes, humectantes y aditivos de diferente propiedad. Se tiene a las cremas: cremas A/O y cremas O/A</p>	<p>La crema elaborada a partir de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" presenta actividad fotoprotectora en ratas albinas Holtzman al ser sometidos a una fuente artificial de luz ultravioleta (UV).</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> Crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" a diferentes concentraciones.</p> <p><b>Indicadores:</b> 10% 15% 20% 25 %</p> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" a diferentes concentraciones, determinada por la medición de un indicador que se ve incrementado por la radiación ultravioleta (UV), inducida en la piel del animal de experimentación.</p> <p><b>Indicadores:</b> Eritema 0 no eritema 1 definido (rojo apreciable) 2 moderado (rojo) 3 intenso (rojo intenso) 4 severo (muy enrojecido)</p>	<p><b>POBLACIÓN.</b> Propóleo de <i>Apis mellifera</i> "abeja" recolectadas en el distrito de Luricocha, luego de 3 días de congelación se preparará la tintura madre con alcohol etílico absoluto al 96°. Pasado 5 días se obtendrá el extracto blanco y la tintura madre de propóleo para luego proceder a la determinación de los metabolitos secundarios (flavonoides y taninos).</p> <p><b>MUESTRA.</b> 100 g de crema elaborada de extracto hidroalcohólico de propóleo de <i>Apis mellifera</i></p> <p><b>UNIDAD EXPERIMENTAL.</b> 21 ratas albinas Holtzman adquiridos del INS.</p> <p><b>FORMULACIÓN Y ELABORACIÓN DE LA CREMA</b> Se formulará una forma farmacéutica con 10%, 15%, 20% y 25% de extracto hidroalcohólico blanco de propóleo.</p> <p><b>EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS DE LAS CREMAS</b> <b>A.- Determinación de las características organolépticas.</b> Color, olor, consistencia aparente, eviscencia, poder refractante, homogeneidad, distribución y tamaño de partículas de los glóbulos de la fase interna.</p> <p><b>B.- Determinación del tipo de emulsión o signo de emulsión</b> <b>C.- Determinación del índice de extensibilidad:</b> <b>D.- Determinación de la irritabilidad dérmica primaria:</b> <b>DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA</b> Se determinará mediante el método COLIPA.</p> <p><b>FPS= DEM con protección/DEM sin protección</b> Se utilizarán 21 animales de experimentación a los cuales 72 horas antes del ensayo se les depilará el lomo, como fuente lumínica se utilizará el foco UV ( A- B ) Philips HB - 12301. Para el ensayo se distribuirá 3 animales en 6 grupos.</p> <p><b>GRUPO N°1:</b> Animales control solamente depilados. <b>GRUPO N°2:</b> Animales depilados y sometidos a radiación ultravioleta (UV). <b>GRUPO N°3:</b> Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema fotoprotectora al 10 %. <b>GRUPO N°4:</b> Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema fotoprotectora al 15 %. <b>GRUPO N°5:</b> Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema fotoprotectora al 20 %. <b>GRUPO N°6:</b> Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema fotoprotectora al 25 %. <b>GRUPO N°7:</b> Animales depilados sometidos a radiación ultravioleta más crema patrón ISDIN FPS 90.</p> <p><b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> El método empleado será el de barras de varianzas de varianzas los cuales serán elaborados utilizando los resultados experimentales obtenidos en la presente investigación con una significancia de 0.05 (ANOVA).</p>

## **ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

**R. D. Nº 163 – 2011 – FCB – D**

**Bach: ADRIÁN NAVARRO CAMASI**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes veinte de Mayo del dos mil once en el auditorio del Departamento Académico de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Magíster Marco Aronés Jara, según Memorando Nº 329-2011- UNSCH-FCB, en representación del decano de la Facultad de Ciencias Biológicas Maestro Elmer A. Avalos Pérez con la asistencia de los miembros: Bigo César Rodolfo Vargas, Magíster Edwin Enciso Roca, Magíster Edgar Cárdenas Landeo (Asesor) , Doctor Aldo Tinco Jayo (cuarto jurado calificador); actuando como secretaria docente la Magíster Maricela López Sierralta, para recepcionar la tesis: Actividad fotoprotectora de crema elaborada a base de extracto hidroalcohólico del propóleo de *Apis mellifera* "abeja" en ratas albinas Holtzman. Ayacucho – 2010, presentado por el bachiller en Farmacia y Bioquímica Adrián Navarro Camasi, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutico. El presidente (e) inicia el acto de sustentación solicitando a la secretaria docente la revisión de los documentos en mesa y la lectura de la Resolución Decanal Nº 163-2011-FCB-D, procediendo luego con indicaciones al tesisista respecto a la exposición, aclarando que debe evitar la lectura en la diapositivas con un tiempo de exposición a no mayor a cuarenta y cinco minutos, luego del cual el sustentante inicia su exposición haciendo uso de un equipo multimedia para la proyección de sus diapositivas en el tiempo correspondiente .

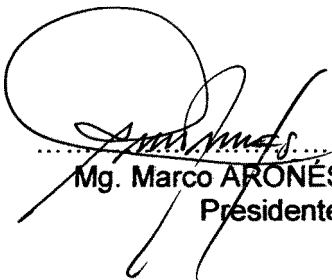
Luego se inicia la segunda etapa en la que los miembros del jurado calificador realizan las observaciones y preguntas que crean conveniente para la evaluación correspondiente iniciando su participación el profesor Aldo Tinco, luego Edwin Enciso, Rodolfo Vargas y finalmente Edgar Cárdenas en su condición de asesor.

En seguida el presidente (e) solicita al sustentante y público en general que abandonen el auditorio para que el jurado pueda deliverar y calificar como sigue.

JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RPTA	PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. César RODOLFO VARGAS	15	15	15	
Mg. Edwin ENCISO ROCA	17	16	17	
Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO	18	18	18	
Dr. Aldo TINCO JAYO	15	15	15	

Promedio Total= 16

Luego de la calificación realizada, el sustentante, obtuvo la calificación promedio de **DIECISÉIS (16)** de lo cual dan fé los jurados, estampando su firma al pie de la presente. Concluye el acto de sustentación siendo las Seis de la noche.



Mg. Marco ARONÉS JARA  
Presidente (e)



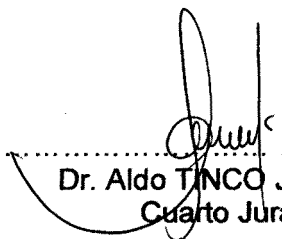
Mg. César RODOLFO VARGAS  
Miembro



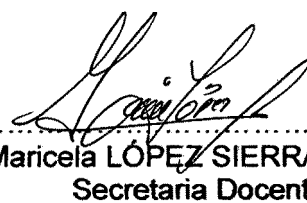
Mg. Edwin ENCISO ROCA  
Miembro



Mg. Edgar CÁRDENAS LANDEO  
Miembro – Asesor



Dr. Aldo TINCO JAYO  
Cuarto Jurado



Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA  
Secretaria Docente